

---

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## ÉTUDE SUR LE SÉRODIAGNOSTIC ET SUR LA RÉACTION AGGLUTINANTE CHEZ LES TYPHIQUES

PAR

M. F. WIDAL

ET

M. A. SICARD

Professeur agrégé à la Faculté  
de médecine de Paris,  
Médecin des Hôpitaux

Interne des hôpitaux  
de Paris.

---

Le 26 juin dernier<sup>1</sup>, l'un de nous a proposé à la Société médicale des hôpitaux de Paris une méthode permettant de faire le diagnostic de la fièvre typhoïde, en cherchant simplement comment le sérum, voire même une goutte du sang d'un malade, agit sur une culture en bouillon de bacille d'Eberth. Ce procédé de *sérodiagnostic*, suivant la dénomination que nous avons proposée, a été rapidement essayé et confirmé par les bactériologistes de tous les pays, et les cliniciens ont reconnu les services que la nouvelle méthode pouvait rendre pour le diagnostic souvent si épineux de la dothiéntérie.

L'étude de la réaction agglutinante ne nous a pas fourni seulement une méthode pratique: elle nous apporte au lit du malade une preuve nouvelle et éclatante de la spécificité du bacille d'Eberth; elle nous permet d'éclairer quelques points encore obscurs de l'histoire de la fièvre typhoïde et n'est pas sans jeter quelque lumière sur le problème encore si complexe de l'infection et de l'immunité.

L'étude comparative de la réaction agglutinante pendant l'infection et pendant l'immunité ne pouvait guère se faire, en

1. F. WIDAL, Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. *Société médicale des Hôpitaux*, 26 juin 1896, et *Congrès de Nancy*, 6 août 1896.

effet, avec les maladies aiguës expérimentales. Chez les animaux en expérience, la limite de ces deux périodes est souvent difficile à déterminer. La fièvre typhoïde humaine, par contre, en raison de sa longue durée, de son cycle précis, se prête mieux que toute autre maladie à cette étude comparative durant la période fébrile et durant la période de convalescence.

Avant d'exposer l'ensemble de nos recherches sur ce sujet, rappelons les travaux de ceux qui ont les premiers constaté et étudié la réaction agglutinante fournie par le sérum des animaux immunisés.

#### HISTORIQUE

En 1889, MM. Charrin et Roger <sup>1</sup> ont, les premiers, constaté le développement en amas du bacille pyocyanique, dans le sérum pur d'animaux immunisés contre l'infection due à ce microbe.

Deux ans plus tard, en 1891, M. Metchnikoff <sup>2</sup> étudia méthodiquement la question et fit des constatations analogues, pour ce qui concerne le *Vibrio Metchnikovi* et le pneumocoque. N'ayant plus constaté le même phénomène avec le sérum des animaux immunisés contre la pneumo-entérite des porcs, M. Metchnikoff n'osa lui attribuer aucune portée générale.

En 1893, M. Issaëff <sup>3</sup>, dans un travail fait à l'Institut Pasteur, confirme pour le pneumocoque ce que M. Metchnikoff avait vu en 1891. Plus tard, MM. Issaëff <sup>4</sup> et Ivanoff firent semblable constatation pour le vibron d'Ivanoff.

Jusque-là, on n'avait essayé *in vitro* que l'action des sérums purs des vaccinés. La voie était bonne, mais le procédé ne pouvait conduire à une méthode sûre pour la pratique. Les sérums normaux employés à l'état pur agglutinent parfois les microbes ensemencés. Cette agglutination, lorsqu'elle existe, est toujours moins marquée qu'avec le sérum des vaccinés, mais la différence, dans la pratique, pourrait être difficile à apprécier. C'est, du moins, la conclusion à laquelle nous sommes arrivés, après avoir ensemencé le bacille d'Eberth dans un grand nombre de sérums d'individus non typhiques.

1. CHARRIN ET ROGER, *Comptes rendus*, 1889, t. CIX, p. 710.

2. METCHNIKOFF, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1891, p. 473, 474.

3. ISSAEFF, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1893, p. 269.

4. ISSAEFF ET IVANOFF, *Zeitschrift für Hygiene*, 1894, p. 122.



D'autre part, les sérums normaux ou les sérums des typhoïdiques, employés à l'état de pureté, sont parfois suffisamment bactéricides pour empêcher tout développement des bacilles d'Eberth ensemencés.

En 1894, Pfeiffer fit connaître le phénomène qui porte son nom. Voici en quoi consiste ce phénomène.

Si l'on injecte, dans le péritoine d'un cobaye solidement immunisé, des vibrions cholériques délayés dans du bouillon, ou si l'on injecte dans le péritoine d'un animal neuf une culture délayée de vibrions cholériques, et, en même temps, une petite dose de sérum préventif; dans l'un et l'autre cas, on voit, au bout d'un temps très court, une heure au maximum, un grand nombre de vibrions subir une modification des plus intéressantes. Ils sont presque tous immobilisés; la plupart d'entre eux ont perdu leur forme bacillaire et se sont transformés en granules arrondis.

On sait le parti que Pfeiffer tira de ce phénomène pour l'explication de la théorie de l'immunité et pour le diagnostic des vibrions cholériques. Pour Pfeiffer, on pouvait considérer, comme vibrions de nature sûrement cholérique, tous les microbes ressemblant aux vibrions de Koch par leurs différents caractères et se transformant en granules lorsqu'on les injecte, en même temps que du choléra-sérum, dans le péritoine d'un cobaye neuf.

En 1896, Pfeiffer et Kolle<sup>1</sup> ont essayé de répéter l'expérience avec le bacille d'Eberth et le sérum antityphique. Ils ont recherché ce qu'ils appellent *la réaction d'immunité*, en inoculant dans le péritoine des cobayes une émulsion de bacilles d'Eberth additionnée d'une petite dose de sérum d'hommes convalescents de fièvre typhoïde. Ils ont constaté, dans ces conditions, l'immobilisation et la transformation des bacilles en granules, mais d'une façon inconstante, et non pas, disent-ils, avec cette régularité qui ne fait jamais défaut lorsqu'on opère avec le vibron et le sérum cholérique. Nous avons injecté, en ces derniers temps, à des cobayes, une émulsion de bacilles d'Eberth additionnée de sérum d'individus non pas convalescents, mais atteints de fièvre typhoïde, pour voir si nous ne pouvions trouver

1. PFEIFFER ET KOLLE, Ueber die spezifische Immunitätsreaction der Typhusbacillen. (*Zeitschrift für Hygiene*, 1896, vol. XXI, n° 2, p. 203.)

ainsi un nouveau procédé de sérodiagnostic doublant, pour ainsi dire, le premier. Mais nos résultats ont été irréguliers et souvent difficiles à apprécier. De sorte qu'en ne se plaçant même qu'au point de vue technique (car nous n'en sommes pas encore à l'examen de l'idée théorique qui est la base du sérodiagnostic), si nous n'avions d'autre procédé à mettre en usage que la recherche du phénomène de Pfeiffer, le sérodiagnostic de la fièvre typhoïde n'existerait pas.

Le progrès devait être dans la recherche de l'influence que les sérums pouvaient avoir *in vitro* sur les microbes.

M. Metchnikoff remit la question dans son véritable chemin, en montrant, à nouveau, les métamorphoses que les vibrions pouvaient subir *in vitro*, et M. Bordet<sup>1</sup>, préparateur à l'Institut Pasteur, a eu le mérite de montrer que si un sérum neuf, ne provenant pas d'un animal immunisé, pouvait parfois produire *in vitro* la transformation de certains vibrions, comme le fait le sérum des vaccinés, il suffisait, pour parer à cette cause d'erreur, de diluer les sérums dans une solution salée. Dans ces conditions, les sérums cholériques produisent seuls sur les vibrions des transformations visibles au microscope et à l'œil nu. La question était dès lors résolue au point de vue technique.

Durham, dans une communication faite à la Société royale de Londres, le 3 janvier 1896, résume des travaux faits en commun avec Gruber, précise les règles à suivre, et montre comment, en suivant le procédé indiqué par Bordet, au moyen des sérums dilués provenant d'animaux immunisés contre le choléra ou l'infection typhique, on peut faire rapidement, à l'œil nu et au microscope, la différenciation des diverses espèces de vibrions ou celles des bacilles typhiques et des colibacilles.

Gruber<sup>2</sup>, seul ou en collaboration avec Durham, revient sur la question en différents mémoires, et étudie minutieusement le phénomène. Pfeiffer et Kolle<sup>3</sup>, reprenant la question à leur tour, voient les transformations que les sérums des animaux immu-

1. BORDET, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895, p. 492.

2. GRUBER, Active und passive Immunität gegen Choléra und Typhus, etc. (*Wiener Klinische Wochenschrift*, 1896, nos 11 et 12, p. 183 et 201.)

GRUBER ET DURHAM, Eine neue Methode zur raschen Erkennung der Choleravibrio und der Typhusbacillus. (*Munchener medicinische Wochenschrift*, 31 mars 1896, p. 285.)

3. PFEIFFER ET KOLLE, Zur differential Diagnose der Typhusbac. mittelst Serums der gegen Typhus immunisirten Thiere. (*Deutsche medicinische Wochenschrift*, 19 mars 1896, p. 183.)



nisés peuvent faire subir *in vitro* aux bacilles typhiques comme au vibrion cholérique, lorsqu'onensemence l'un ou l'autre de ces microbes dans un bouillon vierge, additionné, au préalable, de sérum typhique ou de sérum cholérique.

La différenciation des microbes d'espèces voisines par l'action des sérums spécifiques allait se faire de la façon la plus simple, et se pratiquer avec la facilité d'une réaction chimique.

La réaction agglutinante et la réaction de Pfeiffer sont deux phénomènes complètement différents. C'est à tort que M. Gruber a soutenu qu'ils étaient sous la dépendance l'un de l'autre.

Le phénomène de Pfeiffer se produit avec le concours d'un organisme vivant. Il consiste en une véritable bactériolyse des microbes injectés dans le corps du cobaye, en même temps que le sérum immunisateur. Les microbes ne sont pas agglomérés, s'ils ne l'ont pas été au préalable par leur contact avec le sérum *in vitro*; ils sont transformés en granules et, suivant la comparaison de C. Fränkel, sont dissous dans l'organisme comme un morceau de sucre est dissous dans l'eau.

Pfeiffer et Kolle ont démontré d'une façon indiscutable que l'action agglutinante et l'action lysogène n'avaient rien de commun, et M. Salimbeni a prouvé récemment que l'agglutination du vibrion cholérique, loin de se produire dans les humeurs, au sein de l'organisme des vaccinés, n'apparaissait que lorsque les humeurs étaient mises au contact de l'air, à la façon de la coagulation du sang qui se produit à la sortie des vaisseaux.

Le gonflement de la membrane d'enveloppe des microbes apparaissant sous l'influence de la substance agglutinante, gonflement qui leur permettrait de s'immobiliser, de se réunir en amas et de subir ensuite la bactériolyse, est une pure hypothèse due à M. Gruber. Le fait n'a jamais été constaté par Pfeiffer, Bordet, Salimbeni, ni par nous-mêmes.

L'action agglutinante est donc indépendante de l'action lysogène, comme elle est indépendante, nous le verrons, de l'action bactéricide exercée par les sérums sur les microbes *in vitro*. Les diverses qualités acquises par un sérum ne sont pas nécessairement liées les unes aux autres.

Le terme, « action paralysante », dû à M. Pfeiffer et employé récemment encore par M. Kolle, exprime incomplètement le phénomène. Nous verrons, d'autre part, que la formation des amas

se produit avec les bacilles morts comme avec les bacilles vivants, et, dans ce cas, nous comprenons mal comment la paralysie pourrait frapper des corps privés de vie.

Le mot agglutination, proposé par M. Gruber, est plus approprié ; il exprime la partie essentielle du phénomène.

Dans toute la suite des travaux que nous avons énumérés, il n'est jamais question que de la recherche d'une *réaction d'immunité* (*Immunitätsreaction*). Depuis le jour où l'on a commencé à étudier l'action des sérums d'immunisés sur les microbes, depuis 1889 jusqu'en 1896, durant ces sept années d'activité expérimentale, il n'est pas un mémoire, il n'est pas même une phrase d'un mémoire où, à notre connaissance, il soit fait seulement allusion à la possibilité de trouver une *réaction de la période d'infection* avec le sérum d'individus étant à la période de début, ou même à la période d'état, d'une maladie comme la fièvre typhoïde<sup>1</sup>.

L'idée que le sérum des typhoïdiques, au cours et même au début de la maladie, possède déjà des propriétés spécifiques, celle, par exemple, d'agglutiner *in vitro*, en certaines proportions, une culture de bacilles d'Eberth, est absolument personnelle à l'un de nous, qui, déjà en 1892, dans un *Mémoire des Annales de l'Institut Pasteur*, avait montré, avec M. Chantemesse, que non seulement le sérum des convalescents, comme l'avait vu M. Stern, mais que le sérum des malades atteints de fièvre typhoïde, encore en période fébrile, avant même la défervescence, pouvait déjà avoir acquis des propriétés spéciales et être préventif pour les animaux. Le fait, confirmé d'abord par M. Stern, l'a été récemment encore par M. Kolle. Le 26 juin dernier<sup>1</sup> en

1. Un article récent de M. Gruber (*Münchener medicinische Wochenschrift*, 27 avril et 4 mai 1897, p. 435 et 477), que je viens de lire, lorsque ce travail était déjà sous presse, me force à revenir brièvement sur cet historique et à établir nettement la part qui revient à chacun dans l'étude de la réaction agglutinante et dans la conception du sérodiagnostic.

L'agglutination par le sérum pur des immunisés, constatée, comme nous l'avons montré plus haut, dès 1889, n'est devenue applicable, comme procédé technique, que du jour où M. Bordet en 1893 a nettement indiqué l'action immobilisante et agglomérante des sérums dilués.

Six mois plus tard, MM. Gruber et Durham ont repris avec grand soin cette étude de la réaction par sérums dilués de Bordet, ont eu le mérite de la vulgariser et de l'appliquer avec quelques sages restrictions à la différenciation des vibrios et à celle du bacille d'Eberth et des bacilles d'espèce voisine.

La seule idée originale de M. Gruber est d'avoir essayé de baser sur la réaction agglutinante une théorie nouvelle de l'immunité. Tous les faits publiés en ces derniers mois concordent à montrer l'inexactitude de la conception théorique de



rapportant nos premiers cas de sérodiagnostic positif, nous donnions la preuve que la réaction agglutinante est bien déjà une réaction de la période d'infection. Comme nous l'avions prévu

M. Gruber. Pour ma part, j'ai toujours considéré la réaction agglutinante comme étant déjà, chez l'homme, une réaction de la période d'infection. C'est là une simple constatation de fait, qui ne comporte pas de théorie. Je m'étais demandé à un moment si cette réaction, appréciable dans la période d'infection, n'était pas déjà, dans une certaine mesure, une réaction de défense; mais j'avais pris bien soin de montrer qu'aucun fait ne le prouvait encore, ce que je répète à nouveau, et j'ajoutais que si la réaction agglutinante était une réaction de défense, elle ne pourrait l'être que pendant l'infection et non pendant l'immunité. Nous avons déjà montré, en effet, avec M. Sicard, que la réaction agglutinante s'atténuait souvent au début de la convalescence, c'est-à-dire au moment où l'immunité est le plus solide, et nous avons montré de plus qu'à la veille d'une rechute, le pouvoir agglutinatif pouvait être plus élevé qu'il ne l'avait été pendant toute la durée de la première attaque.

Dès 1892, nous avons vu avec M. Chantemesse que le sérum des individus encore en période d'état de fièvre typhoïde pouvait déjà présenter des qualités préventives. Cette idée que le sérum des typhiques possédait déjà des qualités spéciales pendant l'infection, idée que M. Gruber n'avait pas, est celle qui m'a conduit à la conception du sérodiagnostic. Je ne vois pas en quoi ce fait peut montrer que la réaction agglutinante est bien une réaction d'immunité. D'abord, la propriété agglutinante dans un sérum est complètement indépendante de la propriété préventive, et ensuite il est de notion vulgaire aujourd'hui qu'un sérum peut présenter des qualités préventives sans que l'individu qui le porte ait acquis l'immunité. D'ailleurs, la question n'est pas là.

Dans les écrits de M. Gruber, et ce sont les écrits seuls qui peuvent compter en matière d'histoire scientifique, pas un mot n'indique qu'il ait seulement soupçonné la possibilité de constater la réaction agglutinante pendant la période d'infection. Et comment M. Gruber aurait-il pu la soupçonner, lui qui ne cessait de soutenir que la réaction agglutinante n'apparaissait que dans le sérum des animaux immunisés et qui, au mois d'avril 1896, au Congrès de Wiesbaden, demandait aux cliniciens de rechercher la réaction agglutinante chez les hommes ayant eu autrefois la fièvre typhoïde et le choléra (*welche Typhus und Cholera überstanden haben*), et ne songeait même pas à émettre l'hypothèse que la réaction agglutinante pourrait peut-être se trouver pendant le cours de la maladie.

M. Gruber n'a donc pas à s'étonner que son appel n'ait pas trouvé d'écho. Il importait peu aux cliniciens de chercher, pour servir sa théorie, comment la réaction agglutinante se comportait chez les anciens cholériques ou chez les anciens typhiques. Pour arriver à la conception du sérodiagnostic, j'ai dû précisément commencer par me débarrasser de l'idée erronée que la réaction agglutinante était une réaction d'immunité, idée qui empêchait de saisir la signification pratique du phénomène.

Le premier mémoire sorti du laboratoire de M. Gruber, où il soit question de réaction agglutinante pendant l'infection, a été publié par M. Grünbaum dans le n° de *The Lancet* du 19 septembre 1896. A cette époque, la question du sérodiagnostic de la fièvre typhoïde était jugée depuis longtemps. Elle avait été portée devant l'Académie de médecine de Paris par mon maître M. Dieulafoy, plus de deux mois auparavant; elle avait été à l'ordre du jour de la Société médicale des hôpitaux, pendant tout le mois de juillet, et à l'ordre du jour du Congrès de Nancy, au mois d'août. M. Grünbaum est donc venu donner une confirmation tardive de ma méthode de sérodiagnostic à une époque où quelques centaines d'observations de contrôle avaient déjà été publiées en Europe et en Amérique.

En résumé, évitons toute ambiguïté dans cette question d'histoire et ne con-

dès notre première communication, la méthode sera applicable dans une certaine mesure à quelques autres infections, au choléra notamment. MM. Achard et Bensaude l'ont démontré dès le mois de septembre de l'année dernière pour cette dernière maladie. M. Wright vient d'étudier le sérodiagnostic de la fièvre de Malte. Le sérodiagnostic de la morve est en ce moment à l'étude en Angleterre, et celui de la peste est à l'étude dans l'Inde.

PROCÉDÉS POUR METTRE EN ÉVIDENCE LA RÉACTION AGGLUTINANTE AVEC LE  
SÉRUM OU LE SANG FRAIS

Dès sa première communication, l'un de nous a montré que divers procédés lents ou rapides pouvaient être employés pour déceler la réaction agglutinante chez les typhiques, que cette réaction pouvait être mise en évidence non seulement avec le sérum frais, mais encore avec le sang frais total, ou avec le sérum desséché. Commençons donc par exposer ces procédés, et par montrer en quoi consiste l'agglutination des bacilles typhiques, sous l'influence du sérum des malades.

Un premier procédé lent consiste à mélanger en certaines proportions le sérum à du bouillon, à ensemençer le tout avec du bacille d'Eberth, à mettre à l'étuve à 37° et à chercher ainsi, à l'œil nu et au microscope, comment le sérum impressionne les bacilles à l'état naissant. Si l'on mélange le sérum d'un typhique à du bouillon, dans la proportion de 1 pour 10, par exemple, voici ce que l'on observe. Durant les premières heures, la culture paraît mal se développer; le sérum ajouté semble exercer une action retarda-

fondons pas la conception du sérodiagnostic avec la découverte du procédé technique qui permet de déceler la réaction agglutinante.

Le fait d'avoir constaté l'immobilisation et la formation en amas des microbes sous l'influence des sérums dilués des animaux immunisés n'appartient pas à M. Gruber, qui le tient de M. Bordet. Il reste à M. Gruber d'avoir, avec M. Durham, employé le sérum dilué des immunisés pour la différenciation des microbes d'espèces voisines.

Quant à la conception du sérodiagnostic, j'en ai assumé le 26 juin 1896 toute la responsabilité. Cette responsabilité m'a été laissée jusqu'ici et je la conserve pleine et entière. Si la méthode de séro-diagnostic avait été démontrée fausse et trompeuse, qui donc aurait été assez injuste pour songer seulement à faire partager à M. Gruber le poids de mon erreur? On n'aurait eu qu'à admirer avec quelle sagacité cet auteur avait montré que la réaction agglutinante n'était qu'une réaction d'immunité, et avec quelle sagesse il s'était gardé d'en conseiller la recherche pendant l'infection.

WIDAL.



trice sur la germination des bacilles, et la durée de ce retard varie suivant le sérum employé. On se rend compte facilement de ce fait, en comparant la culture en bouillon additionnée de sérum à des cultures témoins faites en bouillon simple. Au bout d'un temps variant entre 4 et 7 heures, quelques grumeaux apparaissent, et, en 12 ou 24 heures, le tube a pris un aspect tout à fait caractéristique; les microbes se sont amassés au fond du tube pour y former un précipité de petits flocons blanchâtres, et laissent le bouillon presque complètement clair. Par agitation, ces flocons n'arrivent pas à se dissoudre complètement; ils laissent toujours un précipité nageant dans le liquide sous forme d'une très fine poussière.

L'aspect n'est pas toujours aussi caractéristique. Le bouillon, au lieu de rester clair, peut se troubler dans toute son étendue, mais un examen attentif montre que le trouble n'est pas homogène, qu'il ne se présente pas avec cet aspect moiré particulier aux cultures de bacilles d'Eberth, et, en regardant le tube sous un certain angle d'incidence, on voit que le trouble apparent est dû seulement à un précipité fait d'une très fine poussière, dont chaque grain, comme le microscope le montre, n'est qu'une agglomération de microbes.

Parfois les couches supérieures du tube ont un aspect boueux et même parfois moiré; un dépôt grumeleux s'est pourtant encore formé au fond, et, par l'agitation, on fait tourbillonner dans toute la hauteur du liquide une fine poussière, voire même de petites pellicules insolubles.

L'aspect du tube peut varier, d'ailleurs, suivant le moment où on l'examine, comme l'a vu Breuer<sup>1</sup> et comme nous avons pu le constater nous-mêmes. Il est bon d'examiner le liquide d'heure en heure, pour saisir les variations de son aspect; on remarque alors qu'après quelques heures de culture à l'étuve, le bouillon est resté clair, les microbes s'étant agglutinés au fond du tube sous forme de grumeaux blanchâtres. Si, après 18 ou 24 heures, on examine le tube à nouveau, le liquide peut s'être troublé au-dessus du précipité. On dirait que les premiers microbes formés ont accaparé toute la substance agglutinante, et que les bacilles développés par la suite ont pu se développer en toute liberté.

1. BREUER, Zur Widal'schen Serodiagnostik. (*Berliner Klinische Wochenschrift*, 1896, n<sup>os</sup> 47 et 48.)

En résumé, rien n'est plus saisissant pour l'œil que le phénomène de la clarification du bouillon, avec agglomération des amas bacillaires au fond du tube. La nature de ces amas doit toujours être reconnue par l'examen microscopique. Pour être caractéristique, le phénomène doit être observé dans toute sa pureté. Si le bouillon se trouble au-dessus du précipité, le phénomène peut être confondu à l'œil nu avec les pseudo-réactions que l'on observe parfois après addition de sérum non typhique, et qui apparaissent même, en quelques cas, dans de simples cultures en bouillon, sans que l'on puisse en saisir la raison.

Un second procédé lent consiste à ajouter le sérum typhique dans une culture en bouillon déjà formée et âgée de un ou deux jours. Le mélange est laissé à la température de la chambre ou placé à l'étuve à 37°. Si le sérum est doué d'une forte puissance agglutinative, déjà après quelques heures on peut voir la culture perdre son trouble uniforme, devenir grumeleuse et finir par se clarifier complètement, par précipitation au fond du tube des amas bacillaires. Si le sérum est moins actif, un précipité plus ou moins abondant se dépose au fond du tube, la culture devient boueuse, parfois même granuleuse dans toute sa hauteur, mais n'arrive pas à clarification. L'examen microscopique est toujours nécessaire pour confirmer le diagnostic fait à l'œil nu.

La méthode lente exige l'usage d'un sang recueilli dans des conditions de pureté absolue. La prise dans la veine peut seule donner une certitude à peu près complète. Pour cette opération, l'emploi d'une seringue est inutile. M. Bensaude a montré qu'il suffisait d'employer l'aiguille de la seringue à injection de sérum, et d'adopter à son pavillon un tube en caoutchouc souple de quelques centimètres de longueur. Ce petit appareil, toujours facile à confectionner, se stérilise facilement. On pique la veine, on conduit l'extrémité libre du morceau de caoutchouc dans la partie supérieure d'un tube stérilisé où le sang s'écoule goutte à goutte.

Le procédé extemporané le plus simple, le plus rapide, est aussi le plus sensible, pourvu qu'on ne se départisse pas des règles que nous aurons tout à l'heure à formuler.

Il n'est pas besoin, pour son usage, d'avoir recours à la ponc-



tion aseptique de la veine. Il suffit de piquer avec la pointe d'une lancette la pulpe d'un doigt que l'on a préalablement lavé antiseptiquement, puis desséché. On fait pendre la main du malade hors du lit, de façon à ce qu'elle occupe une position déclive, on exprime le doigt par massage depuis la racine jusqu'au voisinage de la piqure, et l'on recueille quelques gouttes dans un tube de verre. On attend la séparation du sérum et du caillot qui, parfois, commence à se produire au bout de quelques minutes. Si cette séparation tarde à s'établir, il suffit, pour la hâter, de décoller avec une pointe stérilisée le caillot adhérent aux parois du tube.

Rien n'est donc plus simple que de recueillir du sang qui doit être examiné par le procédé extemporané. Un praticien peut toujours avoir à sa disposition un tube de verre, qu'il passe à la flamme d'une lampe à alcool, un bouchon qu'il fait bouillir, et envoyer en toute sécurité dans un laboratoire, pour être examiné par le procédé extemporané, le sang recueilli après lavage antiseptique du doigt. Le sérum doit toujours être recueilli aussi purement que possible, mais si des fautes d'asepsie ont été commises, il peut se conserver plusieurs jours à la température de la chambre, même impur, sans que le résultat de l'examen extemporané puisse être troublé. Nous verrons dans un des chapitres suivants que, même dans ces conditions, le pouvoir agglutinatif reste presque invariable.

Le sang peut donc être adressé à un bactériologiste, pour le sérodiagnostic, aussi facilement qu'un crachat de tuberculeux pour la recherche du bacille.

Le choix de la culture à employer pour la réaction demande plus de précautions que n'en réclame la prise du sang. On doit, bien entendu, être assuré avant tout de la pureté de la culture, dont il faut avoir soin toujours de faire une préparation témoin avant l'addition du sérum. Les cultures typhiques développées à l'étuve présentent parfois, en effet, des pseudo-amas, spontanément formés. L'emploi d'une culture jeune en bouillon, âgée de 24 heures, permet le plus souvent d'éviter ces faux amas, comme l'ont montré MM. Nicolle et Halipré, et comme nous l'avons constaté nous-mêmes; mais il est des cas où, sans qu'on puisse en saisir la raison, ces faux amas se forment même dans une culture jeune. Le seul moyen d'éviter l'erreur, nous ne saurions trop le répéter, est de ne pas se départir de la règle

de toujours examiner entre lame et lamelle une goutte de la culture, au moment même où on va l'additionner du sérum à étudier.

Bien plus, pour faire la préparation d'épreuve, il ne faut jamais négliger de prendre une des quelques gouttes mêmes qui vont être immédiatement additionnées de sérum. Si l'on ne prend pas cette précaution, il peut arriver qu'une prise faite avec une pipette au milieu d'un tube de bouillon typhique ne donne que des bacilles mobiles; qu'une prise faite dans le même tube à la surface, — où il se forme quelquefois un petit voile membraneux, — ou bien faite au fond de ce tube — où se déposent parfois des grumeaux — donne, au contraire, des pseudo-amas.

Un observateur non prévenu sur ces détails de technique pourrait facilement commettre une erreur et croire trouver la réaction agglutinante là où elle n'existe pas.

Si l'on ne néglige jamais de faire la préparation témoin, on peut à la rigueur utiliser une culture en bouillon vieille de quelques jours et même de quelques semaines. On trouve, en effet, fréquemment des tubes qui, mis en culture depuis si longtemps, ne présentent pas de pseudo-amas, surtout si la prise est faite au milieu de la colonne liquide, et si la culture s'est développée à la température de la chambre. Avec le temps, le bouillon s'éclaircit, les bacilles se déposent tous au fond du tube, mais libres et non groupés en amas; il suffit d'agiter la culture pour voir les bacilles s'élever en tourbillons et troubler uniformément le liquide.

Lorsque, pour le sérodiagnostic, on fait usage d'une culture vivante, l'emploi d'une culture jeune est toujours préférable.

On peut délayer dans du bouillon vierge une culture de bacilles typhiques sur gélose, ajouter à cette émulsion le sérum suspect et rechercher la réaction au microscope et à l'œil nu. La préparation de l'émulsion demande un certain temps. Il est bon de filtrer sur papier la culture délayée avant d'ajouter le sérum; il ne faut jamais négliger de faire une préparation témoin pour voir s'il ne reste pas au préalable quelques grumeaux ayant résisté à la dissociation d'abord et à la filtration ensuite. Nous préférons l'emploi des cultures jeunes dans du bouillon, qui sont d'un emploi plus facile et qui nous ont semblé donner des résultats plus égaux.



La réaction agglutinante apparaît nettement avec le sang total. Si dans une éprouvette ou un verre de montre contenant dix gouttes d'une culture en bouillon de bacilles d'Eberth, on laisse tomber une goutte de sang, on obtient le phénomène, aussi bien que par l'addition d'une goutte de sérum. Avant d'examiner au microscope, il faut attendre que les globules rouges se soient déposés au fond du vase, et les quelques globules qui restent toujours sur la préparation rendent la mise au point plus facile. Ce procédé est le plus simple, parce que, avec une seule goutte du sang d'un malade, il permet de constater la réaction sans même que l'on s'occupe de la séparation du caillot et du sérum. En pratique, il perd de sa simplicité apparente, puisqu'on est obligé de se transporter auprès du malade avec la culture qui doit recevoir la goutte de son sang. Il est vrai qu'aujourd'hui la possibilité d'employer des cultures mortes rend cette pratique plus facile. Mais on ne peut ainsi mesurer le pouvoir agglutinatif, et actuellement cette mensuration ne doit pas être négligée dans la pratique du sérodiagnostic.

Il nous reste à montrer comment la réaction agglutinante se caractérise au microscope. Si à dix gouttes d'une culture jeune de bacilles d'Eberth dans du bouillon, on ajoute une goutte du sérum d'un typhique, et si l'on place une goutte du mélange entre lame et lamelle, voici ce que l'on observe. On aperçoit, en général immédiatement, des amas de bacilles agglutinés les uns aux autres, et entre ces amas, des bacilles libres et mobiles plus ou moins nombreux. On peut, dans ce cas, porter un diagnostic pour ainsi dire instantané. Si la préparation est agitée de nombreux mouvements browniens, on a tout intérêt à la revoir, après l'avoir laissée reposer pendant un quart d'heure ou une demi-heure. On saisit mieux ainsi la formation des amas, surtout lorsque le pouvoir agglutinatif est peu intense. On assiste d'abord, dans ce cas, à la simple formation des centres agglutinatifs. Les bacilles se rapprochent en îlots, mais ils ne sont pas encore tassés. Ils se fondent ensuite, par pression réciproque, et ne sont plus isolables pour l'œil au centre de l'amas. Lorsque le pouvoir agglutinatif est intense, les bacilles forment d'emblée, par leur réunion, des îlots compacts à la périphérie comme au centre. La préparation, pour être caractéristique, doit présenter des amas nombreux, confluent, parsemant tous les points de la prépara-

tion à la façon des îlots d'un archipel ; cet aspect ne trompe pas quiconque a vu une fois une agglutination véritable.

Dans quelques cas, les espaces qui séparent les amas s'éclaircissent, si bien qu'au bout d'une heure ou deux, l'on ne voit plus guère que des îlots d'agglutination. Souvent les bacilles isolés restent encore nombreux et plus ou moins mobiles, alors même que le pouvoir agglutinatif est intense ; on dirait, là encore, que les bacilles réunis en amas ont accaparé presque toute la substance agglutinante.

La forme des amas, le nombre des bacilles restés isolés et mobiles peut varier d'une préparation à l'autre, alors même que ces préparations ont été faites au même moment avec des gouttes provenant du même mélange de sérum et de culture. Lorsque nous étudierons la mensuration du pouvoir agglutinatif, nous verrons, en effet, que l'agglutination entre lame et lamelle est aidée par la dessiccation et par une sorte d'action physique variant suivant l'épaisseur de la goutte interposée. Nous verrons que la formation des agglutinats est moins rapide, dans une préparation laissée à la chambre humide, ou dans une goutte déposée en lame creuse.

Le processus d'immobilisation et le processus d'agglomération que l'on voit s'établir sur la même préparation présentent dans leurs rapports des variations qui n'obéissent à aucune règle. Les deux processus semblent bien constituer un seul et même phénomène.

Nous n'avons jamais constaté sous l'influence d'un sérum agglutinatif le gonflement de la membrane d'enveloppe des microbes décrit par M. Gruber.

#### RÉACTION AGGLUTINANTE AVEC LE SANG DESSÉCHÉ

Dès notre première communication sur le sérodiagnostic, nous avons montré qu'un sérum typhique pouvait conserver ses propriétés agglutinatives, après quatre mois de dessiccation.

Plus tard, dans un travail spécial, nous avons comparé l'action agglutinante du sang ou du sérum desséché. Nous avons constaté que le sang desséché sur diverses substances, particu-



lièrement sur des fragments d'éponge, après dilution dans la proportion de 1 pour 12 ou de 1 pour 15 environ, agglutinait le bacille d'Eberth, mais moins activement que le faisait le sang ou le sérum liquide. Voici comment nous opérions : nous imprégnions de petits fragments d'éponges avec 4 ou 5 gouttes de sang que nous laissions dessécher, nous imbibions d'abord les petits morceaux d'éponges pendant une demi-heure avec 10 ou 15 gouttes de bouillon simple, puis une goutte du mélange était ensuite versée dans 5 gouttes de culture de bacilles d'Eberth dans du bouillon <sup>1</sup>.

MM. Johnston <sup>2</sup> et Taggart <sup>3</sup> ont vu récemment que la persistance de la propriété agglutinante du sang, établie par nous, pouvait être utilisée en hygiène publique. Ces auteurs, dans un très grand nombre de cas, ont retrouvé la réaction agglutinante avec des gouttes de sang desséchées sur papier, qu'ils se faisaient envoyer à leur laboratoire, de diverses régions du Canada. Le sang desséché sur papier se laisse en effet facilement diluer, comme l'ont constaté ces expérimentateurs.

Le conseil d'hygiène du Canada a, sous leur direction, organisé un service public de sérodiagnostic par le sang desséché.

Voici la technique qui nous paraît la meilleure à suivre. Après piqure du doigt, on laisse tomber quelques grosses gouttes de sang sur une feuille de papier, à intervalles espacés ; on laisse ces gouttes se dessécher complètement à l'air, pendant six heures environ. Pour la recherche de la réaction, on découpe exactement avec des ciseaux une rondelle de sang desséché ; puis dans un godet en verre de montre, contenant deux gouttes d'eau, on place une de ces rondelles, de façon à ce que la face recouverte par la goutte de sang soit tournée vers le fond. Avec une baguette de verre, on agite pendant quelques minutes la rondelle de papier en la comprimant contre les parois du godet, jusqu'à ce que le sang desséché ait été complètement dissous dans les deux gouttes d'eau, que l'on mélange alors à huit gouttes de culture du bouillon de bacille d'Eberth.

Dans un travail récent <sup>3</sup>, MM. Johnston et Taggart ont montré

1. WIDAL ET SICARD, Recherche de la réaction agglutinante dans le sang et le sérum desséchés des typhiques et dans la sérosité des vésicatoires. (*Soc. Médic. des Hôpit.* 31 juil. 1896). — Sérodiagnostic par le sang desséché, au point de vue de la médecine légale et de l'hygiène publique (*Soc. de Biol.*, 9 janv. 1897).

2. JOHNSTON, *New-York medical journal*, 31 octobre 1896.

3. JOHNSTON ET TAGGART, *British medical*, 5 décembre 1896, p. 629.

que des pseudo-réactions s'observaient plus facilement avec le sang desséché qu'avec le sérum.

On peut saisir de la sorte la réaction à ses débuts, comme l'ont constaté Johnson et Taggart, et comme nous avons pu nous en convaincre récemment en étudiant comparativement le sérum liquéfié et le sang desséché de plusieurs malades. On peut encore saisir cette réaction chez d'anciens typhiques dont le pouvoir agglutinatif est devenu très faible.

Rien ne vaut l'usage du sérum liquide qui permet la mensuration facile du pouvoir agglutinatif; mais le sang desséché sur papier peut à la rigueur suffire pour assurer un diagnostic à distance. Au point de vue pratique, cette propriété qu'a le sang desséché sur diverses substances de conserver son pouvoir agglutinatif, propriété que nous avons été les premiers à mettre en évidence, peut donc être exploitée dans certaines conditions par l'hygiène publique et la médecine légale.

M. Pfuhl<sup>1</sup>, M. Pick<sup>2</sup>, M. Van Ordt<sup>3</sup>, ont obtenu récemment de bons résultats en pratiquant le sérodiagnostic avec le sang desséché.

N'est-il pas intéressant de constater qu'avec une goutte de sang desséché on peut, dans le temps et dans l'espace, établir l'existence d'une fièvre typhoïde présente ou passée?

Nos expériences nous ont montré que la réaction agglutinante était plus ou moins facile à mettre en évidence, suivant la nature de la substance sur laquelle le sang s'était desséché. Pour ne prendre qu'un exemple, le sang desséché sur un linge ou sur un papier buvard révèle moins bien ses qualités agglutinatives que s'il a été desséché sur du papier glacé.

Pour une épreuve de médecine légale, si l'on présume que les traces de sang trouvées proviennent d'une victime disparue et ayant eu autrefois la fièvre typhoïde, on ne pourra que rechercher si la réaction agglutinante existe ou n'existe pas. Si l'on présume, par contre, que les traces de sang proviennent d'une victime existant encore ou d'un inculpé, voici la technique qui, croyons-nous, serait la plus précise. On commence par établir aussi exactement que possible depuis combien de temps,

1. E. PFUHL, Eine Vereinfachung des Verfahrens zur Serodiagnostik des Typhus. *Centralblatt für Bacteriologie*, 1897, S. XXI, n° 2, p. 52.

2. F. PICK, *Wiener Klinische Wochenschrift*, 1897, n° 4, p. 82.

3. VAN ORDT, *Münchener medicinische Wochenschrift*, 1897, n° 13, p. 327.



sur quelles substances, dans quelles conditions et dans quelle atmosphère le sang s'est desséché, puis on dissout les taches sanguines et on les additionne de culture de bacilles d'Eberth. On recherche ensuite avec l'hémoglobininètre, suivant la technique indiquée par W. Johnston, jusqu'à quelle teinte il faut pousser la dilution pour obtenir encore l'agglutination. On fait ensuite dessécher quelques gouttes de sang frais de la personne suspecte sur la même substance; on les abandonne pendant le même temps, dans les mêmes conditions et autant que possible dans la même atmosphère, pour obtenir les mêmes réductions de l'hémoglobine.

On diluera ensuite et on recherchera si la dilution sanguine, qui donne la réaction à la limite, présente à peu près le même titre que celle précédemment expérimentée. On n'oubliera jamais que ce procédé de mensuration avec le sang desséché n'est qu'approximatif, et que le pouvoir agglutinatif peut varier très rapidement chez un individu récemment convalescent de fièvre typhoïde.

#### LA RÉACTION AGGLUTINANTE SUR LES BACILLES MORTS

Le fait que des bacilles morts peuvent conserver la propriété de se laisser agglutiner par un sérum spécifique est, au point de vue théorique, un des points les plus curieux de l'histoire de la réaction agglutinante. Déjà M. Bordet avait vu que des vibrions cholériques tués par les vapeurs de chloroforme peuvent encore présenter le phénomène de l'agglomération, et nous avons montré que des bacilles typhiques tués par la chaleur ou par l'action d'une substance antiseptique restaient agglutinables<sup>1</sup>.

Depuis quelques mois, nous avons poursuivi des recherches pour voir s'il n'y avait pas là un fait utilisable pour la pratique. Nous avons soumis des cultures de bacilles typhiques à l'action de divers agents physiques et chimiques, et nous sommes arrivés aux conclusions suivantes.

Si l'on expose pendant une demi-heure des cultures de bacilles typhiques en bouillon à la température de 100 ou 70 degrés, on constate que les bacilles morts ont perdu en partie la propriété

1. WIDAL ET SICARD, *Bulletin de l'Académie de médecine*, 29 septembre 1896, et *Société de Biologie*, 30 janvier 1897.

de se laisser agglutiner. Si l'on emploie un sérum suffisamment puissant, la réaction se produit encore, mais les amas mettent plus de temps à se former; ils sont moins volumineux, plus tassés que lorsqu'on fait usage des bacilles vivants. Avant l'addition de tout sérum, la culture ainsi chauffée contient le plus souvent de petits pseudo-amas formés d'éléments que l'on peut toujours séparer par l'agitation du tube.

On sait que les bacilles typhiques sont détruits après une exposition de 5 minutes à la température de 56 degrés. Si l'on expose un tube de culture pendant une demi-heure ou trois quarts d'heure entre 57 degrés et 60 degrés, on voit que les microbes ont conservé toute leur sensibilité à l'action du sérum, et que les amas formés ressemblent de tous points à ceux obtenus avec des bacilles vivants.

Certains agents antiseptiques, en tuant les bacilles, brutalisent moins le protoplasma que la chaleur, et laissent les cadavres microbiens très sensibles à l'action du sérum.

Le formol nous a paru, au point de vue pratique, l'agent le plus utilisable, supérieur même aux essences, qui souvent donnent spontanément des pseudo-amas avant l'addition de tout sérum.

Si à 150 gouttes d'une culture typhique, vieille de un à deux jours, formée uniquement d'éléments séparés et mobiles, et ne présentant pas de pseudo-amas préalables, on ajoute une goutte de formol du commerce, les bacilles sont tués, mais restent comme embaumés, fixés dans l'état où l'antiseptique les a surpris, et pendant des semaines conservent presque intégralement toute leur sensibilité à la réaction agglutinante.

Nous avons maintenu dans une armoire de notre laboratoire, pendant trois et quatre semaines, des tubes de culture de bacilles typhiques ainsi additionnés de formol, et bouchés au-dessus de l'ouate avec un capuchon de caoutchouc. Divers sérums typhiques essayés exerçaient un pouvoir agglutinatif qui, après mensuration exacte, se montrait sensiblement égal sur les bacilles ainsi traités et sur les bacilles provenant de cultures vivantes et jeunes. Bien plus, trois tubes de culture ainsi soumis à l'action du formol ont été conservés de la même façon pendant cinq mois. Deux d'entre eux contenaient des bacilles qui, morts depuis si longtemps, se laissaient aussi facilement agglutiner que les bacilles jeunes et vivants. Dans les cultures conservées, les bacilles



finissent par se déposer tous au fond du tube. Il suffit d'agiter pour voir le bouillon se troubler uniformément. Les cultures ainsi additionnées d'un antiseptique ont encore l'avantage d'offrir une grande résistance à la contamination.

M. Van de Velde<sup>1</sup> a obtenu des résultats pleinement confirmatifs des nôtres, en soumettant des cultures soit à l'action de la chaleur, soit à l'action de divers antiseptiques.

On peut donc conserver dans un laboratoire des cultures traitées au formol, comme on conserve un réactif chimique. On peut toujours, avec elles, obtenir un résultat immédiat. Si l'on est en présence d'un cas à réaction agglutinante faible et douteuse, on attendra la contre-épreuve que fournira le lendemain une culture vivante et rajeunie.

Les bacilles morts gardent une sensibilité fixe, toujours la même, et se prêtent très bien aux mensurations du pouvoir agglutinatif du sérum d'un même malade étudié pendant plusieurs semaines.

Le phénomène de l'agglutination n'est donc pas une réaction vitale de la part des microbes agglomérés; il paraît être plutôt le résultat d'une réaction passive de la part de leur substance protoplasmique<sup>2</sup>.

#### LA RÉACTION AGGLUTINANTE DANS LES DIVERSES HUMEURS DE L'ÉCONOMIE

Le sang, comme nous l'avons établi en divers mémoires, est l'humeur de l'économie qui possède au maximum le pouvoir d'agglutiner; il est comme la réserve des substances agglutinantes; il en est peut-être le générateur. Des mesures précises

1. VAN DE VELDE, Influence de la chaleur, des sels, des métaux lourds et d'autres antiseptiques sur les cultures de bacilles typhiques employés dans le sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. — Académie de Médecine de Belgique, 27 mars 1897. — *Semaine Médicale*, 1897, n° 13, p. 144.

2. Dans une note récente, M. R. KRAUS (Ueber spezifische Niederschläge in Filtraten der Cholera und Typhusculturen mit Cholera und Typhusserum), *Gesellschaft der Aerzte in Wien*, 30 avril 1897), rapporte qu'en ajoutant des sérums spécifiques typhiques et cholériques à des cultures filtrées de bacilles d'Eberth ou de vibrions, il a constaté un trouble du mélange après un séjour à l'étuve à 37°, et parfois un dépôt finement floconneux après 24 heures. Le dépôt cholérique examiné chimiquement lui a donné la réaction des corps albuminoïdes et des peptones. Nous n'avons pas encore eu le temps de répéter les expériences de M. Kraus.

nous ont montré récemment que son plasma avait un pouvoir agglutinatif un peu plus élevé que le sérum. Nous en verrons un peu plus loin la raison.

Les diverses membranes de l'organisme laissent diffuser plus ou moins aisément la matière agglutinante contenue dans le plasma sanguin.

Si nous connaissons mal encore les conditions anatomiques ou physiologiques qui règlent cette transsudation, nous pouvons au moins constater la présence de la propriété agglutinante dans les diverses humeurs de l'organisme, et comparer leur puissance agglomérante à celle du sérum sanguin.

Dans l'urine<sup>1</sup>, comme nous l'avons montré les premiers, la réaction ne se fait que d'une façon inconstante; elle apparaît et disparaît d'un jour à l'autre, presque d'une heure à l'autre, sans qu'on puisse saisir la raison de ces variations. Le pouvoir agglutinatif de l'urine est toujours très faible. Des recherches poursuivies par M. Nobécourt et l'un de nous ont montré que ce pouvoir dépassait rarement 1 p. 10, alors même que le pouvoir agglutinatif du sérum sanguin était très marqué et atteignait 1 p. 7.000. Chez une chèvre, dont le sérum sanguin possédait un pouvoir agglutinatif de 1 p. 8.000, l'urine ne donnait aucune réaction, même après mélange à parties égales avec une culture. Par contre, chez un homme dont le sérum n'agglutinait qu'à 1 p. 700, nous avons vu l'urine acquérir par intervalles un pouvoir agglutinatif de 1 p. 10.

La réaction agglutinante s'observe toujours très intense dans la sérosité des vésicatoires, mais il s'agit ici du plasma sanguin presque en nature, filtrant artificiellement à travers les parois des capillaires.

MM. Achard et Bensaude, puis MM. Thiercelin et Lenoble, ont obtenu une réaction très marquée avec le lait de nourrices atteintes de fièvre typhoïde. Nous avons, de notre côté, obtenu semblable résultat avec le lait ou le colostrum de lapines, et le lait d'une chèvre inoculée avec le bacille d'Eberth. Le pouvoir agglutinatif du sérum de cet animal était de 1 p. 6.000; le pouvoir de son lait mesuré le même jour n'était que 1 p. 400<sup>2</sup>. La comparaison de ces deux chiffres nous montre qu'une partie

1. WIDAL, *Soc. Médic. des Hôpitaux*, 1896, p. 655.

2. WIDAL ET SICARD, *Société médicale des hôpitaux*, 15 janvier 1897.



seulement de la substance agglutinante du sérum sanguin est entraînée avec la sécrétion lactée. M. Mossé a retrouvé la réaction avec le colostrum humain.

Avec le liquide d'œdème et avec la sérosité du pus d'un âne fortement immunisé, nous avons obtenu une agglutination puissante.

Nous avons encore obtenu la réaction avec les sérosités péri-cardique, péritonéale et pleurale. Dans un cas, le pouvoir agglutinatif du sérum sanguin était de 1 p. 350 ; celui de la sérosité péricardique était de 1 p. 60<sup>1</sup>.

Nous avons vu la bile humaine donner la réaction une fois sur deux. Nous n'avons eu que des résultats négatifs, deux fois avec le liquide des vésicules séminales, et trois fois avec le liquide céphalo-rachidien. Négatifs aussi ont été nos examens avec la salive totale, comme l'avaient déjà constaté MM. Achard et Bensande, ou avec les salives sous-maxillaire ou parotidienne recueillie à la sortie du canal glandulaire.

Avec les larmes et l'humeur aqueuse, nous avons pu produire le phénomène agglutinatif. Ce fait mérite toute notre attention. Les larmes constituent une humeur toujours facile à recueillir. Dans l'angle interne de l'œil, au niveau du cul-de-sac lacrymal, on peut constamment, avec une pipette fine et à extrémité émoussée, en aspirer une goutte suffisante pour un examen extemporané. D'autre part, il suffit de faire respirer au malade des vapeurs d'ammoniaque ou de menthol, pour obtenir une sécrétion abondante. Mais on doit distinguer la sécrétion naturelle de la sécrétion provoquée, toutes deux se comportant différemment vis-à-vis du bacille. En effet, nous avons examiné, à ce double point de vue, les larmes de 14 typhiques, dont 10 étaient à la période d'état, et dont 3 étaient convalescents depuis trente à quarante-cinq jours; le dernier était guéri depuis sept ans d'une fièvre typhoïde grave. Tous avaient un sang donnant nettement la réaction. Nous avons pu constater que si le phénomène manquait totalement dans la sécrétion lacrymale naturelle de quatre de nos malades, même lorsqu'on poussait le mélange à 3 et 4 gouttes pour 10, il existait chez les dix autres typhiques : chez six d'entre eux à 1 goutte pour 10; chez trois, à 2 gouttes pour 10; chez un autre, seulement à 3 gouttes

1. WIDAL ET SICARD, *Presse Médicale*, 6 mars 1897, p. CII, observ. XVIII.

pour 10. Par contre, la sécrétion provoquée faisait disparaître la réaction chez onze d'entre eux; chez les trois autres, elle persistait, quoique atténuée. Chez un âne et chez cinq lapins immunisés, la sécrétion lacrymale donnait une réaction des plus nettes; chez deux lapins, il est vrai, elle n'apparaissait qu'après mélange de deux gouttes de sécrétion pour 10 de culture. Les larmes de cinq personnes n'ayant jamais eu la fièvre typhoïde, et de trois lapins normaux, ne nous ont jamais donné ce phénomène.

L'humeur aqueuse recueillie à l'autopsie de trois typhiques ne nous a fourni que des résultats négatifs. Par contre, cinq fois sur neuf, l'humeur aqueuse de lapins immunisés donnait le phénomène à une goutte pour dix, et dans 2 cas seulement, il était nécessaire d'ajouter 2 gouttes à 10 de culture pour obtenir la réaction. L'humeur aqueuse de trois lapins normaux restait sans action sur le bacille d'Eberth.

Nous pouvons donc, presque à volonté, faire disparaître la propriété agglutinante d'une humeur comme les larmes en excitant son excrétion, c'est-à-dire en modifiant brusquement sa constitution et en changeant les conditions de sa diffusion. M. Ménétrier a, dans un cas, constaté l'absence de la réaction dans l'épanchement pleural d'un typhique. La présence de la réaction dans une humeur pathologique, comme celle d'un épanchement aigu de la plèvre, est subordonnée à l'intensité du pouvoir agglutinatif du sérum sanguin. Cette recherche n'a pu être faite dans le cas de M. Ménétrier. La plus ou moins grande activité avec laquelle le liquide exsude des vaisseaux pour se collecter dans la séreuse, l'état des tissus qui forment membrane dialysante, sont autant de causes qui peuvent modifier le plasma épanché, aider ou empêcher le passage de la substance agglutinante.

Dans le cas de M. Ménétrier, l'exsudat pleural, qui ne donnait pas la réaction agglutinante, donna en revanche des cultures de bacilles typhiques à l'état de pureté. M. Paul Courmont<sup>1</sup> a pensé que la présence de bacilles d'Eberth suffisait à enlever au liquide pleural son pouvoir agglutinant. Il rapporte, d'autre part, qu'ayant cultivé du bacille d'Eberth dans du sérum typhique, il

1. PAUL COURMONT, Disparition *in vitro* du pouvoir agglutinant des humeurs des typhiques, lorsqu'on y cultive le bacille d'Eberth. (*Société de Biologie*, 20 mars 1895.)



a vu au bout de quelques jours le pouvoir agglutinatif de cette humeur diminuer considérablement ou même complètement disparaître par le fait de la végétation du bacille. Les mensurations du pouvoir agglutinatif des diverses humeurs recueillies à l'autopsie des typhiques, ont montré encore à M. Courmont que dans le sang se trouve, comme nous l'avons établi, la quantité maxima de substance agglutinante. Dans ses expériences comparatives faites avec le sang provenant des diverses parties du corps, M. Courmont<sup>1</sup> a vu que les plus faibles proportions des substances agglutinantes se retrouvent dans le foie, la rate, les ganglions mésentériques, c'est-à-dire dans les organes infectés par le bacille d'Eberth, qui par sa seule présence ou par ses toxines détruirait, d'après lui, la matière agglutinante. Ce sont là des observations pleines d'intérêt, mais dont nous devons nous garder de tirer des conclusions absolues. L'expérience suivante va nous le prouver<sup>2</sup>.

Nous avons conservé pendant quinze mois dans un flacon le pus d'un âne fortement immunisé. Ce pus, examiné immédiatement après sa prise, fourmillait de bacilles d'Eberth; le liquide s'était rapidement séparé en deux parties, l'une constituée par les globules qui avaient gagné le fond du vase, et l'autre par le sérum qui surnageait. Le sérum du pus, recueilli après quinze mois, avait encore un pouvoir agglutinatif de 1 p. 13,000. Le sérum sanguin du même animal, recueilli en même temps que le pus et conservé pendant quinze mois, avait un pouvoir agglutinatif d'une intensité presque analogue; il mesurait 1 p. 14,000. Les bacilles, par leur présence, n'avaient donc pas altéré sensiblement le pouvoir agglutinatif du pus avec lequel ils avaient été en contact pendant si longtemps.

La réaction agglutinante peut passer de la mère au fœtus, comme nous l'avons vu les premiers, mais ce passage est instantané et en général incomplet.

M. Etienne<sup>3</sup> a rapporté l'histoire d'une femme atteinte, au cours d'une grossesse, d'une fièvre typhoïde grave, qui provoqua l'avortement. Le sang de cette malade donnait très nette-

1. PAUL COURMONT, Répartition de la substance agglutinante chez les typhiques. (*Société de Biologie*, 19 février et 20 mars 1897.)

2. WIDAL ET SICARD, *Soc. méd. des Hôpitaux*, 15 janvier 1897, et *Presse médicale*, 6 mars 1897.

3. ETIENNE, *Presse médicale*, 12 septembre 1896, p. 465.

ment la réaction agglutinante : le sang du fœtus ne la donnait pas. Nous avons montré que ce fait ne devait pas être généralisé. Nous avons, en effet, retrouvé la propriété agglutinative, au moment de la naissance, dans le sang du cœur des petits d'une lapine, inoculée depuis six jours. Le pouvoir agglutinant était, il est vrai, moins marqué chez les nouveau-nés que chez la mère.

MM. Mossé et Daunic<sup>1</sup> ont observé récemment la réaction agglutinante chez un nouveau-né dont la mère avait été atteinte de fièvre typhoïde au 6<sup>e</sup> mois de sa grossesse. Le pouvoir agglutinatif était moindre chez l'enfant que chez la mère.

Ces faits ont une portée générale que l'on ne saurait méconnaître. Ils nous montrent qu'une qualité acquise par l'organisme maternel au cours de l'infection peut être transmise héréditairement par la mère à sa descendance.

#### RECHERCHES SUR L'ORIGINE ET LA NATURE DE LA SUBSTANCE AGGLUTINANTE ET SUR SA FIXATION SUR LES SUBSTANCES ALBUMINOÏDES

La substance agglutinante est déjà en solution dans le sang circulant. Un liquide, comme l'œdème, très pauvre en leucocytes, ou même des liquides privés de leucocytes, comme les larmes ou l'humeur aqueuse, peuvent posséder, nous l'avons montré, la réaction agglutinante. Le plasma diffusé au sein de l'organisme, séparé des éléments figurés du sang, contient donc en partie la substance agglutinante. Cette substance, comme M. Salimbeni<sup>2</sup> vient de le montrer pour le vibrion cholérique, ne semble révéler son action agglomérante sur les microbes qu'en dehors de l'organisme. D'après les expériences de ce savant, la présence de l'air est tout au moins favorable à la production de ce phénomène.

Les leucocytes, en dehors des vaisseaux, ne semblent pas capables de sécréter de substance agglutinante, comme paraît le prouver l'expérience suivante<sup>3</sup> :

1. MOSSÉ ET DAUNIC, *Société médicale des hôpitaux*. 5 mars 1897.
2. SALIMBENI, Recherches sur l'immunité dans le choléra. — Sur l'agglutination. — (*Annales de l'Institut Pasteur*, 25 mars 1897. p. 277.)
3. WIDAL ET SICARD, Recherches sur la nature de la substance agglutinante, etc. (*Bulletin de l'Académie de médecine*, 29 septembre 1896.)

Si, dans un tube de collodion stérilisé, on reçoit quelques c. c. de sang sur 1,5 p. 1,000 d'oxalate de potasse, la coagulation ne se produit pas. Les globules rouges se déposent rapidement au fond du tube et sont surmontés d'une petite couche de globules blancs; le plasma surnage au-dessus de ce dépôt. Enlevons avec une pipette tout ce que nous pouvons de ce liquide; puis, au-dessous de la couche de globules blancs, pratiquons une ligature de façon à les laisser emprisonnés avec la plus petite quantité possible de globules rouges et de plasma. Abandonnons à lui-même pendant 24 ou 48 heures le mélange ainsi isolé au-dessus de la ligature. Comparons alors, d'une part, le pouvoir agglutinatif de la petite quantité de plasma laissée en contact prolongé avec les leucocytes, et, d'autre part, celui du plasma prélevé auparavant, nous verrons que ce pouvoir est sensiblement égal.

MM. Achard et Bensaude<sup>1</sup> sont arrivés en même temps que nous, par une autre voie, aux mêmes résultats. Ces expérimentateurs retenaient en grande partie les leucocytes en filtrant sur un tampon de ouate le sang mélangé à de l'extrait de sangsue.

Ces expériences nous démontrent que les leucocytes en dehors de l'organisme ne dégagent pas de substance agglutinante, comme ils dégagent du fibrinogène, mais rien ne nous prouve que cette substance déjà dissoute dans le plasma n'a pas été abandonnée dans le sang circulant par les leucocytes.

Nous avons montré<sup>2</sup> qu'en faisant filtrer de l'urine au travers d'une bougie de porcelaine, on lui faisait perdre son faible pouvoir agglutinatif, si elle le possédait au préalable. MM. Achard et Bensaude ont confirmé le fait pour le lait.

Si l'on filtre une humeur, comme la sérosité péricardique, on peut encore reproduire le phénomène avec le produit de filtration, mais le pouvoir agglutinatif reste diminué.

Si le sérum ou les humeurs perdent ainsi totalement ou en partie leur pouvoir agglutinatif en passant par la bougie, il est naturel d'en chercher la cause première dans les substances retenues par le filtre. Or, de toutes les parties constitutives des humeurs, les matières albuminoïdes sont les mieux arrêtées

<sup>1</sup> 1. ACHARD ET BENSAUDE, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 503.

2. WIDAL ET SIGARD, *Soc. Médic. des Hôpit.* 1896, p. 653.



au passage. M. Duclaux a montré en effet que le lait perd la plus grande partie de sa caséine dans les mailles de la bougie Chamberland. Nous avons appris, d'autre part, que dans les humeurs pauvres en matières albuminoïdes, telles que le liquide céphalo-rachidien et la salive, la réaction manquait. Il était donc légitime de chercher quel rôle devaient jouer les substances albuminoïdes, dans la rétention de la matière agglutinante.

Si l'on sature le sérum sanguin d'un typhique de sulfate de magnésie, on obtient un précipité de matière albuminoïde dite globuline<sup>1</sup>. Le liquide filtré a perdu son pouvoir agglutinatif que la globuline a conservé. Une solution de cette globuline dans de l'eau distillée donne une réaction des plus nettes. Si l'on emploie un sérum doué d'un puissant pouvoir agglutinatif, le liquide filtré après précipitation possède encore la propriété d'agglomérer; toute la substance active n'a pas été retenue cette fois au-dessus du filtre avec la globuline.

Voyons maintenant les résultats obtenus en précipitant successivement les albuminoïdes, non plus du sérum, mais du plasma en oxalant le sang à sa sortie du vaisseau.

Si l'on additionne le plasma de 15 pour 100 de son poids de chlorure de sodium, on précipite le fibrinogène. Dissolvons ce précipité dans l'eau distillée. La solution de fibrinogène ainsi obtenue agglutine le bacille d'Eberth. Le plasma débarrassé de son fibrinogène agglutine encore. Traitons-le à nouveau par le sulfate de magnésie à saturation; filtrons et nous constaterons, comme tout à l'heure pour le sérum, que souvent le liquide filtré, ne contenant plus que la sérine, a perdu son action agglutinative, qu'il a abandonnée à la globuline restée sur le papier.

Si le plasma est doué d'un fort pouvoir agglutinatif, le dernier liquide filtré peut donner encore le phénomène de l'agglomération.

Le sérum d'un typhique obtenu par formation naturelle du caillot possède, nous l'avons vu, un pouvoir agglutinatif plus faible que le plasma sanguin du même malade obtenu en faisant agir l'oxalate ou l'extrait de sangsue sur le sang à la sortie du

1. Rappelons, comme l'enseigne M. Duclaux, que la constitution de ces matières albuminoïdes est encore mal connue, et que, pour les différencier, nous n'avons jusqu'ici que l'action banale des sels alcalins ou alcalino-terreux qui condensent ces substances en grumeaux plutôt qu'ils ne les précipitent chimiquement.

vaisseau. La différence est facile à mettre en évidence quand le pouvoir agglutinatif est faible. Ainsi, chez un malade dont le sérum mesurait 1 p. 40, le plasma avait un pouvoir de 1 p. 60. La fibrine qui forme la trame du caillot retient sans doute en se coagulant une partie de la substance agglutinante.

Les substances albuminoïdes du sérum sanguin ne sont pas seules à retenir le pouvoir agglutinatif. Nous avons obtenu des résultats comparables, en opérant avec le lait d'une chèvre puissamment immunisée. La caséine ou les substances albuminoïdes successivement précipitées renaient à leur profit, en totalité en en partie, la substance agglutinante.

Ces faits<sup>1</sup> nous prouvent que les substances albuminoïdes précipitées de leurs solutions retiennent la substance agglutinante, comme elles retiennent une teinture et l'abandonnent à nouveau dans leur solution. Les antitoxines sont, on le sait, fixées de la même façon sur les précipités.

La substance agglutinante est-elle de nature albuminoïde, ou est-elle entraînée dans les humeurs à la faveur de substances albuminoïdes en solution? Quelques expériences tentées pour résoudre cette double question nous ont donné les résultats suivants. En dialysant des sérums et du lait de pouvoir agglutinatif différent, nous avons vu le liquide inférieur acquérir très tardivement la propriété agglutinative. Cette propriété n'a jamais apparue que lorsque les matières albuminoïdes avaient commencé déjà à traverser la membrane. Par contre, en opérant avec certains sérums et surtout avec du lait, nous avons, dans le liquide inférieur, constaté la présence de substances albuminoïdes déjà dialysées, alors que la propriété agglutinante n'était pas encore décelable dans ce liquide.

Chez les malades dont le sérum possède un pouvoir agglutinatif intense, l'urine, quoique albumineuse, ne donne pas toujours la réaction agglutinante, comme l'ont déjà constaté MM. Achard et Bensaude. D'autre part, chez des malades convalescents de fièvre typhoïde, nous avons vu, à certains jours, une réaction légère apparaître dans l'urine, qui ne contenait pourtant pas trace d'albumine.

En résumé, nos expériences de dialyse portant sur des

1. Toutes ces expériences sont consignées en détail dans notre mémoire présenté à l'Académie de Médecine le 29 septembre 1896.

humeurs puissamment agglutinatives ne nous ont jamais permis d'obtenir la réaction agglutinante, avec un liquide ne contenant pas de matière albuminoïde; par contre, elles nous ont permis de séparer des corps albuminoïdes qui n'abandonnaient pas à leur solution de matière agglutinante.

Nos recherches sur l'urine nous ont montré qu'un typhique dont le sérum était agglutinatif pouvait éliminer des matières albuminoïdes, non chargées de substance agglutinante; elles montrent également que la substance agglutinante d'un typhique peut s'éliminer sans avoir besoin du véhicule des substances albuminoïdes dissoutes.

Ce sont là les seules conclusions que nous pouvons tirer pour le moment.

La substance agglutinante est douée d'une très grande résistance. Nous avons conservé pendant plusieurs mois, à l'état de pureté, des sérums typhiques, dont le pouvoir agglutinatif restait sensiblement égal. M. Achard a vu que l'exposition d'un sérum au grand soleil n'altérait pas la propriété agglutinante.

Les impuretés développées dans le sérum ne lui enlèvent pas ses qualités agglutinantes. Un sérum d'âne immunisé a été conservé pendant quatorze mois dans notre laboratoire, dans un état d'impureté tel qu'une couche épaisse de moisissures s'était développée à la surface du liquide. Après ce long temps, le pouvoir agglutinatif de ce sérum était encore de 1 pour 16,000. Un sérum typhique humain, qui, dès sa formation, avait un pouvoir agglutinatif de 1 pour 12,000, a été conservé pendant trois mois. Après ce temps, sa surface était également recouverte de moisissure, et pourtant le pouvoir agglutinatif était resté le même.

La substance agglutinative résiste à une température relativement élevée. MM. Nicolle et Halipré<sup>1</sup>, puis M. Hayem<sup>2</sup> ont montré qu'une exposition à 60° n'enlevait pas au sérum ses propriétés agglomérantes.

Le lait, liquide qui ne coagule pas à la chaleur, se prête mieux que le sérum à l'étude de l'action exercée par les hautes températures sur le pouvoir agglutinatif. Le lait d'une chèvre

1. NICOLLE ET HALIPRÉ, Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. (*Presse médicale*, 25 juillet 1896, p. 354.)

2. HAYEM, Sur la persistance de la propriété agglutinante du sérum des typhiques après chauffage à 57°-59°. *Soc. méd. des Hôpitaux*, 8 janvier 1897.



inoculée depuis trois semaines avec du bacille d'Eberth avait un pouvoir agglutinatif qui commençait à diminuer progressivement à partir de 66° et se perdait après dix minutes de séjour à 75°. Ce lait fut examiné de nouveau après que l'animal eut été soumis pendant quatre mois à des inoculations successives. Le pouvoir agglutinatif de ce lait était alors augmenté et s'élevait à 1 pour 400. Après dix minutes de séjour à 75°, son pouvoir agglutinatif était alors très atténué, mais non complètement perdu. Par contre, ce lait chauffé à 80°, puis mélangé à parties égales avec une culture de bacilles d'Eberth, ne déterminait pas la moindre agglutination, même après plusieurs heures de contact <sup>1</sup>.

Des expériences récentes entreprises avec des sérums à pouvoir agglutinatif peu marqué, oscillant entre 1 pour 20 et 1 pour 50, nous ont montré qu'après une heure d'exposition aux températures de 57° ou de 58°, ce faible pouvoir subissait parfois une légère diminution.

Si l'on filtre à la bougie une culture de coli-bacilles vieille de trois jours et si l'on ensemence ensuite le produit de filtration avec du bacille d'Eberth, la culture se fait lentement et maigrement à l'étuve. Les bacilles ainsi développés, en présence d'une toxine étrangère, se laissent pourtant agglutiner encore par un sérum typhique.

Si l'on ajoute une culture déjà formée de bacilles typhiques à une culture de coli-bacilles, et si on additionne le tout de quelques gouttes de sérum typhique, les bacilles d'Eberth sont retrouvés au milieu du mélange par le sérum qui les agglutine. Cette propriété peut servir à la rigueur à dépister, dans un milieu liquide, le bacille d'Eberth récemment mélangé au coli-bacille.

La propriété agglutinative est loin d'être nécessairement liée aux autres qualités acquises par un sérum au cours de l'infection ou de l'immunité.

Nous avons vu, dans le chapitre que nous avons consacré à l'histoire, que la propriété agglutinante doit être dissociée de la propriété lysogène. De même, la propriété agglutinante doit être dissociée de la propriété bactéricide. Si l'on ensemence le bacille d'Eberth dans le sérum pur de typhiques, tantôt, comme

1. WIDAL ET SICARD, *Bulletin de l'Académie de médecine*, 29 septembre 1896, et *Société médicale des Hôpitaux*, 13 janvier 1897.

nous l'avons montré<sup>1</sup>, il ne se développe pas dans l'humeur qui est bactéricide; tantôt, au contraire, il se développe en laissant le liquide clair et en déterminant la formation d'amas qui se précipitent au fond du tube. Nous avons conservé ainsi pendant deux mois et demi, à la température et à la lumière de notre laboratoire, deux sérums de typhiques à la période d'état et un sérum de convalescent ayant fourni de semblables amas après ensemencement de bacilles d'Eberth, dont la culture avait été d'abord mise en train pendant quelques jours à l'étuve à 37°. Ces microbes, après ce long séjour dans le sérum, avaient conservé toute leur vitalité, comme nous l'a prouvé leur ensemencement dans le bouillon.

Dans un même sérum, la propriété agglutinante peut être dissociée de la propriété atténuante. La virulence du bacille d'Eberth est souvent si faible et si peu fixe, qu'il est délicat de rechercher ce que devient cette virulence dans un sérum où le bacille est agglutiné. On peut, par contre, procéder par comparaison avec ce qui se passe pour des espèces microbiennes très virulentes.

M. Issaëff, dans un mémoire fait sous la direction de M. Metchnikoff, a montré que les cultures de pneumocoques, fortement agglutinés dans le sérum des animaux vaccinés, conservent leur propriété virulente, facile à mettre en évidence si on filtre les microbes en les lavant à l'eau physiologique pour les débarrasser autant que possible du sérum thérapeutique dans lequel ils se sont développés, ou si, d'autre part, on réensemence les microbes en bouillon simple. La culture fille ainsi obtenue est beaucoup plus virulente que la culture mère faite en sérum thérapeutique. Or, si l'atténuation du microbe s'était faite réellement sous l'influence du sérum, le pneumocoque atténué, étant réensemencé dans un nouveau milieu nutritif, devrait produire une génération également peu virulente. C'est le contraire que l'on observe.

L'analyse expérimentale nous permet donc de saisir dans le sérum des infectés ou des immunisés quelques qualités spéciales; en se perfectionnant, elle permettra, sans doute, d'en saisir d'autres encore. Les propriétés bactéricide, atténuante, préventive, agglutinative, qui semblent souvent marcher de pair,

1. WIDAL ET SICARD, La réaction agglutinante chez les typhiques, comparée pendant l'infection et pendant l'immunité. *Presse Médicale*, 23 décembre 1896.

parce qu'elles dérivent de la même cause, peuvent jouir entre elles d'une indépendance relative.

Les faits que nous venons de rapporter résument l'état de nos connaissances sur cette curieuse propriété agglutinante, et nous montrent surtout le mystère qui entoure encore sa nature et son origine.

LA RÉACTION AGGLUTINANTE SUR LES ÉCHANTILLONS DE DIVERSE  
PROVENANCE.

Il était naturel de chercher si les sérums typhiques n'impressionnaient pas différemment les divers échantillons de bacilles d'Eberth.

Durham <sup>1</sup>, après avoir essayé l'action d'un sérum provenant d'un animal immunisé contre l'infection typhique sur 19 échantillons de bacilles d'Eberth, provenant de pays divers, de Vienne, de Tubingen, de Londres ou de ses environs, nous dit qu'il n'a constaté que des différences tout à fait insignifiantes, portant seulement sur le temps que l'agglutination mettait à se former.

MM. Achard et Bensaude disent n'avoir observé avec divers échantillons que des différences légères.

M. Van de Velde dit avoir constaté des différences appréciables dans la sensibilité à la réaction agglutinante de divers échantillons de bacille de la fièvre typhoïde.

M. Kolle <sup>2</sup>, qui n'a pratiqué le sérodiagnostic que dans deux cas, a cru pouvoir appliquer aux bacilles typhiques les constatations faites par M. Pfeiffer et par lui-même sur les vibrions cholériques. Il a soutenu que des bacilles atténués par une longue végétation sur un milieu nutritif artificiel étaient beaucoup plus influençables par un sérum typhique que les bacilles virulents. M. Kolle ne s'explique pas sur le degré de cette virulence, toujours si précaire pour les échantillons de bacilles typhiques utilisés dans les laboratoires, qu'en tout cas, on n'aurait guère à s'en préoccuper dans la pratique du sérodiagnostic.

1. DURHAM, *Journal of pathology and bacteriology*. Juillet 1896, p. 35.

2. KOLLE, *Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1896, p. 152.



MM. W. Johnston et Taggart<sup>1</sup> aboutissent à une conclusion opposée. Pour eux, les microbes entretenus dans leur vitalité par une transplantation quotidienne de milieux en milieux exposés à la température de 37°, ont une sensibilité beaucoup plus grande à l'action agglutinante que les cultures rarement renouvelées et laissées pendant un mois à la température de la chambre. Aussi ces auteurs, pour éviter des pseudo-réactions, proposent-ils pour la pratique l'emploi de ces cultures atténuées par ce long repos.

M. Stern<sup>1</sup>, qui a comparé ses cultures à plusieurs de nos échantillons, leur a trouvé une sensibilité à peu près égale aux nôtres. Un échantillon envoyé par M. du Mesnil de Rochemont lui a paru plus agglutinable.

Depuis le début de nos recherches sur le sérodiagnostic, nous avons de notre côté essayé la sensibilité d'échantillons de provenances les plus diverses. Nous avons essayé vingt-six échantillons européens ou exotiques. Grâce à l'obligeance de M. Dupaquier, de la Nouvelle-Orléans, nous n'avons pu opérer en particulier avec des échantillons de la Louisiane, du Maryland, du Canada. Nous avons employé des bacilles retirés fraîchement de la rate du vivant ou du cadavre, ou transplantés depuis un temps plus ou moins long dans les laboratoires, ayant séjourné sur milieux solides ou milieux liquides. L'un deux, pendant plusieurs mois, fut transplanté presque quotidiennement en bouillon. Un autre, par contre, fut réensemencé après avoir été enfermé pendant cinq ans et demi en culture liquide dans une pipette close, à l'abri de l'air et de la lumière. Nous avons essayé ces divers échantillons avec des sérums doués de pouvoirs agglutinatifs très différents. Dans nos études comparatives, nous avons utilisé surtout des sérums de convalescents, doués de pouvoir agglutinatif peu intense, variant entre 1 p. 20 et 1 p. 50. Les mensurations sont ainsi plus aisées et l'on n'a pas besoin d'avoir recours aux dilutions successives. Nous avons non seulement comparé simultanément l'action d'un même sérum sur divers échantillons, mais nous avons comparé encore pendant plusieurs semaines l'action d'une même provision de sérum sur des cultures d'âge différent d'un même échantillon.

Après bien des recherches, nous avons constaté à nouveau,

1. STERN, *Berl. Klin. Woch.* 1897, n° 41.

comme nous l'avions déjà vu<sup>1</sup>, que, si certains échantillons semblaient se laisser parfois agglutiner un peu plus facilement par divers sérums, cette supériorité d'action d'un échantillon donné n'était pas constante. On peut la voir souvent fléchir suivant le sérum éprouvé. C'est là un point sur lequel nous ne saurions trop insister. Inversement, on rencontre parfois un sérum qui agglutine un peu plus rapidement un échantillon qui jusque-là avait paru un peu moins sensible que les voisins. Pour ne prendre qu'un exemple, nous avons, il y a quelques mois, recherché, sur le conseil de M. Roux, l'action du sérum de trois typhiques sur des échantillons de bacilles provenant de ces malades mêmes. La réaction agglutinante se produisit dans les trois cas; mais, dans deux d'entre eux, la réaction a toujours paru un peu moins intense sur l'échantillon provenant du malade que sur d'autres échantillons d'origines les plus diverses.

Jusqu'à présent, nous n'avons jamais observé que de faibles différences. L'écart, lorsqu'il existe, est toujours très minime. Un sérum qui agglutine des échantillons à 1 p. 40, en agglutinera un autre par exception 1 p. 35 ou 1 p. 30. Un sérum normal, qui à 1 p. 5 ne donne aucune trace d'agglutination avec divers échantillons, en trouvera par hasard un qu'il impressionnera pour cette proportion. La mensuration du pouvoir agglutinatif, faite suivant les règles que nous indiquerons, nous permet de nous mettre au-dessus de ces nuances.

Les vingt-six échantillons que nous possédons dans notre laboratoire, recueillis à des époques différentes et dans des régions diverses, peuvent tous sans distinction servir au séro-diagnostic, et nous ne saurions vraiment donner la préférence à aucun d'entre eux. M. C. Fränkel est arrivé récemment à des conclusions identiques.

Cette égalité presque complète des divers échantillons de bacilles d'Éberth vis-à-vis de la réaction agglutinante n'est pas un des points les moins intéressants de l'histoire de ce microbe. Elle nous prouve une fois de plus qu'il est peu de germes aussi rigoureusement spécifiques et dont les échantillons soient aussi constamment semblables à eux-mêmes.

1. WIDAL ET SICARD, *Presse médicale*, 2 décembre 1896.

## LA SPÉCIFICITÉ DE LA RÉACTION AGGLUTINANTE

On sait que MM. Gruber et Durham ont proposé d'utiliser l'action *in vitro* du sérum d'un animal immunisé contre l'infection typhique pour différencier le bacille d'Eberth du coli-bacille. M. Durham a vu qu'un sérum typhique, obtenu expérimentalement chez le cobaye, était sans action sur dix échantillons de coli-bacilles. Mais le bacille d'Eberth est-il le seul microbe agglutinable par un sérum typhique? D'autre part, le bacille d'Eberth ne peut-il être agglutiné par un sérum non typhique? Ce sont là autant de questions intéressantes à résoudre, pour poser les règles de la technique à suivre dans la différenciation des microbes d'espèces voisines par les sérums spécifiques et dans la pratique du sérodiagnostic.

La première question a été posée par M. Gruber<sup>1</sup>, qui a rencontré par exception un échantillon du *bacillus enteritidis* de Gærtner qui, faisant fermenter la lactose, était cependant agglutiné par un sérum typhique *concentré*. Mais M. Gruber s'empresse d'ajouter qu'en solution diluée, ce même sérum avait une différence d'action marquée sur les deux microbes, et plus loin l'auteur ajoute encore en note que dans des cas semblables, si l'on cherche les proportions à employer, on obtiendra peut-être un procédé de différenciation certain.

MM. Gilbert et Fournier<sup>2</sup> ont étudié l'action de sérums typhiques sur le bacille de la psittacose, ou microbe des perruches infectieuses. Ce bacille, découvert par M. Nocard, est doué d'une virulence extrême; il ne fait pas fermenter la lactose, mais ne repousse pas sur cultures grattées de bacilles typhiques : il représente un type intermédiaire entre le coli-bacille et le bacille d'Eberth. Il se laisse agglutiner par le sérum typhique, mais moins bien que le bacille typhique, comme MM. Gilbert et Fournier l'ont constaté les premiers.

MM. Achard et Bensaude ayant pensé pour cette raison que la réaction agglutinante était une cause d'incertitude pour le diagnostic des deux bacilles, nous avons essayé de fixer les

1. M. GRUBER, « Eine neue Methode zur raschen Erkennung des Cholera-vibrio und des Typhusbacillus ». *Münchener medicinische Wochenschrift*, 31 mars 1896, p. 285.

2. GILBERT ET FOURNIER, *Acad. de médecine*, 20 oct. 1896.



règles de technique à employer pour distinguer les deux microbes par l'action d'un sérum typhique.

Lorsque l'on veut essayer de différencier par la réaction des sérums deux microbes d'espèces voisines, il faut avant tout rechercher méthodiquement s'il est des conditions dans lesquelles un même sérum semble donner pour les deux espèces une réaction agglutinante commune, et s'il est des conditions au contraire où le même sérum présente une action tellement différente sur les deux microbes qu'elle puisse être exploitée pour le diagnostic bactériologique. Dire qu'un même sérum agglutine ou n'agglutine pas deux microbes d'espèces voisines est pour la pratique une expression incomplète. L'agglutination a ses règles; la proportion de sérum à mélanger au bouillon, le procédé à employer pour mettre en présence le sérum et les microbes à examiner, sont autant de facteurs importants à préciser et variant suivant les microbes à différencier.

Si l'on mélange le sérum d'un homme atteint de fièvre typhoïde à une culture jeune en bouillon de bacilles d'Eberth, dans la proportion de 1 pour 10, presque instantanément, comme nous l'avons montré ailleurs, se forment des amas typiques, visibles au microscope. Si l'on mélange dans la même proportion le même sérum typhique à une culture jeune de bacilles de la psittacose, on voit également se former des amas microbiens. Si l'on regarde de près, on saisit des différences entre les deux modes d'agglutination. Les amas formés avec les microbes de la psittacose sont souvent plus petits, plus resserrés; les éléments en sont moins distincts, les bacilles restés libres sont en général plus nombreux; mais, ce ne sont là encore parfois que des nuances.

Si l'on porte la proportion du mélange à 1 goutte de sérum pour 20, 30 ou 40 gouttes de culture, on voit que les amas formés par le bacille de la psittacose deviennent de moins en moins nombreux, à mesure que la dilution est plus étendue. Souvent sur une préparation faite avec une dilution, à  $1/20$ , à  $1/30$  ou à  $1/40$ , on ne trouve plus d'amas, alors qu'une dilution de même proportion faite avec le même sérum et une culture de bacille typhique en montre encore de très nets. On obtient les mêmes résultats alors même que l'on fait usage du sérum d'âne ou de chèvre, puissamment immunisés.

Ainsi le sérum d'un même typhique, mélangé dans la proportion de 1 pour 10 d'une culture en activité de bacille de la psittacose ou de bacille d'Eberth, agglutine les deux microbes, mais différemment, et, par la méthode des dilutions successives, un bactériologiste arrive déjà à les distinguer l'un de l'autre.

Si l'on varie le procédé technique et si, au lieu de faire agir le sérum sur des bacilles déjà développés, on le fait agir sur des bacilles naissants, la différence devient éclatante et plus n'est besoin d'appréciation minutieuse pour distinguer les deux microbes.

Ajoutons différents sérums typhiques humains ou expérimentaux à des tubes de bouillon vierge, faits en double, dans la proportion de 1 pour 20, 1 pour 40, 1 pour 60, 1 pour 80. Ensemencons les uns avec une trace de bacille typhique, les autres avec une trace de bacille de la psittacose, et plaçons-les à l'étuve à 37 degrés.

Si nous examinons ces tubes après quatre à cinq heures, déjà du premier coup d'œil nous distinguons ceux ensemencés avec le bacille de la psittacose, qui présentent un trouble parfait, de ceux ensemencés avec le bacille typhique, qui sont clairs, transparents, et dont le fond est parsemé de flocons blanchâtres. La différence augmentera durant les heures suivantes et sera des plus marquées après quinze à vingt heures.

Si l'on examine au microscope une goutte d'un bouillon ainsi ensemencé avec le bacille typhique, on voit, sur la préparation, de gros amas typiques de bacilles d'Eberth, disposés en îlots d'archipel, séparés par de grands espaces vides où l'on ne voit en général qu'un nombre restreint d'éléments isolés et immobilisés pour la plupart. Si, au contraire, on examine une goutte d'un bouillon ensemencé avec le bacille de la psittacose, l'aspect au microscope est tout autre. On trouve encore quelques amas plus ou moins volumineux; mais ils sont perdus au milieu du grand nombre de bacilles restés isolés et ayant conservé pour la plupart leur mobilité. Ajoutons qu'une culture de psittacose, faite dans les mêmes conditions après addition de sérum d'hommes non atteints de fièvre typhoïde, présente également au microscope les mêmes rares amas microbiens.

Fixons à 1 pour 40 ou à 1 pour 60 la proportion d'un sérum typhique humain à ajouter à un bouillon vierge, avant l'ensemencement.

mencement avec le bacille de la psittacose, et par ce procédé le bacille typhique se distinguera aussi nettement du bacille de la psittacose qu'il se distingue du coli-bacille.

Le sérum normal de certains animaux agglutine partiellement le bacille d'Eberth, ainsi que le coli-bacille et diverses autres bactéries. M. Bordet avait constaté une agglutination légère du bacille d'Eberth avec le sérum de cheval et d'âne normal. Le sérum normal du chien possède souvent la même propriété; celui du lapin la possède parfois également. Des mensurations faites avec du sérum de cheval, d'âne ou de lapin normal, nous ont montré, dans quelques cas, un pouvoir agglutinatif oscillant entre 1 p. 30 et 1 p. 50. Le sérum du cobaye normal n'est pas agglutinatif, comme l'avait déjà vu Gruber. C'est tout à fait par exception que nous l'avons vu produire une agglutination minime et retardée dans la proportion de 1 p. 5.

Tous les sérums humains typhiques ou non typhiques exercent, comme nous l'avons montré ainsi que M. Courmont, une action agglutinante légère et spéciale sur les cultures en bouillon de coli-bacilles, après mélange fait dans la proportion de 1 p. 10.

Le sérum normal de l'homme est, en général, dénué de pouvoir agglutinatif pour le bacille d'Eberth. Il ne se prête que rarement à la formation instantanée d'amas véritables, même après dilution dans la proportion de 1 p. 5. Nous n'avons vu qu'exceptionnellement un sérum normal dilué dans la proportion de 1 p. 10, amener la formation de centres agglutinatifs. Jamais après une demi-heure, les amas n'étaient assez confluent et, condensés pour permettre de poser un sérodiagnostic, en suivant les règles que nous avons formulées.

La réaction agglutinante acquise n'est-elle, suivant l'hypothèse de C. Fränkel<sup>1</sup>, que l'exagération de cette réaction agglutinante légère exercée normalement par certains sérums sur diverses bactéries? Ces deux réactions naturelles et acquises sont-elles au contraire de nature complètement différente? Ce sont là des questions que nos expériences ne nous ont pas permis encore de résoudre.

Nous avons vu, tout à l'heure, qu'un sérum typhique impressionnait différemment le bacille d'Eberth ou le bacille de la

1. C. FRAENKEL, Ueber das Werth der Widal'schen Probe, *Deutsche med. Woch.*, 1897, n° 3.



psittacose développé en sa présence. Ce fait nous a fourni un procédé de différenciation des plus tranchés pour le diagnostic des deux microbes, et loin de toucher à la spécificité de la réaction agglutinante, il semble être pour elle un argument nouveau. Il suffit de s'entendre sur le sens du mot.

Lorsque, sous l'influence d'une infection, le sérum d'un animal devient agglutinant pour le microbe infectant, cette action agglutinante ainsi acquise, ou exagérée, si elle manquait à ce sérum quelques jours auparavant, est spécifique pour ce microbe, dans l'acception rigoureuse du mot, comme est spécifique l'immunité acquise. Le microbe inoculé a impressionné de telle façon le sérum de l'animal injecté que ce sérum, mis en présence d'un microbe de même espèce, reconnaît ce microbe et témoigne de sa spécificité par la réaction agglutinante. Par contre, il reste en général sans action sur les microbes d'espèce éloignée.

Bien plus, le sérum est tellement marqué au sceau du microbe infectant, que mis en présence d'espèces voisines, appartenant au même groupe familial, il trahit leur communauté de race par une réaction agglutinante qui semble parfois presque proportionnelle à leur degré de parenté.

Si, dans un autre ordre d'idées, passant de la théorie à la pratique, le bactériologiste, pour les besoins de la technique, cherche à employer la réaction agglutinante d'un sérum spécifique pour le diagnostic microbiologique, il doit savoir que l'action agglutinante de ce sérum n'est pas rigoureusement limitée au microbe infectant, qu'elle peut s'exercer, mais à des degrés différents, sur les espèces voisines. Son rôle n'est donc pas de rechercher seulement les conditions dans lesquelles un même sérum agglutine d'une façon à peu près identique deux microbes d'espèces voisines, mais surtout de rechercher les conditions dans lesquelles l'agglutination diffère et peut fournir un procédé de diagnostic.

#### ÉPOQUE D'APPARITION ET DE DISPARITION DE LA RÉACTION AGGLUTINANTE CHEZ L'HOMME

Les faits jusqu'ici publiés nous montrent qu'on peut, dans un grand nombre de cas, compter sur la réaction agglutinante,

à partir du septième jour de la maladie. Le phénomène peut parfois apparaître plus tard, mais souvent par contre il peut être décelé beaucoup plus tôt.

Dans six cas, nous l'avons constaté dès le cinquième jour; M. Thiroloix, M. Catrin ont noté la réaction au quatrième jour. M. Chantemesse, MM. Villiès et Battle, M. Lyman-Creene, MM. Achard et Bensaude l'ont observé au quatrième et au troisième jour; M. Zabolotny du troisième au cinquième jour; MM. Johnston et Taggart au deuxième jour; M. C. Fränkel l'a enfin constatée chez un malade atteint de forte fièvre depuis deux jours seulement.

Chez certains sujets, la réaction agglutinante peut s'observer plus tardivement. Chez deux malades, nous ne l'avons obtenue qu'au huitième jour; chez un autre au dixième jour; chez un autre au vingt-deuxième jour. M. Stern a obtenu un résultat négatif à la fin de la deuxième semaine, et positif à un examen répété deux jours après. M. Kolle, dans un cas, n'a trouvé la réaction qu'au seizième jour et dans un autre cas au dix-septième jour; M. Pick, chez un malade, ne l'a constaté qu'au trente-quatrième jour.

M. Breuer dans un cas, MM. Thoinot et Cavasse dans un autre, ne l'ont trouvée qu'au cours d'une rechute; M. Achard dans un cas ne l'a constatée que dans les premiers jours de la convalescence, etc.

C'est en raison de cette possibilité d'une réaction retardée que l'un de nous, au Congrès de Nancy, disait déjà qu'un résultat négatif, obtenu avec le sérum d'un malade suspect, ne fournit qu'une probabilité contre le diagnostic de fièvre typhoïde, et ajoutait que la probabilité est d'autant plus grande que l'examen est pratiqué à une époque plus avancée de la maladie.

La précocité de la réaction n'est pas en rapport avec l'intensité de l'infection. M. Chantemesse rappelait récemment encore que ce n'est pas dans les cas les plus graves qu'elle se manifestait le plus tôt, et il rapportait l'histoire d'un enfant de quinze ans, dont le sérum agglutinait déjà au troisième jour de l'infection, et dont la maladie fut pourtant bénigne.

Lorsqu'on inocule des cobayes dans le tissu cellulaire avec 1 c. c. d'une culture en bouillon de bacilles d'Eberth, âgée de 24 heures, on voit, en général, la réaction apparaître après trois

jours, comme l'ont signalé MM. Achard et Bensaude ; mais dans certains cas, sans qu'on puisse en saisir la raison, elle est retardée, et il nous est arrivé de ne pas encore la trouver au cinquième jour.

Dans un cas, 60 heures après l'inoculation, le pouvoir agglutinant était, au moment de son apparition, de 1 pour 15 ; puis il s'est élevé progressivement à 1 pour 500.

Si on injecte une culture tuée par une exposition de trois quarts d'heure à 60 degrés, il faut double dose et cinq jours d'attente en général pour que la réaction apparaisse. Lorsqu'on injecte des cultures stérilisées par l'ébullition, il faut attendre plus longtemps et inoculer parfois des doses de 10 et 12 c. c. pour voir apparaître le phénomène. On observe d'ailleurs dans sa date d'apparition des variations quelquefois considérables, suivant l'animal inoculé.

En injectant à un cobaye, par doses fractionnées, une culture stérilisée à la bougie de porcelaine, mais n'ayant pas subi l'action de la chaleur, il nous a fallu attendre l'inoculation successive de 8 c. c., pour voir apparaître la réaction après huit jours<sup>1</sup>. M. Chantemesse<sup>2</sup> a vu apparaître, chez un mouton, la réaction agglutinante cinq jours après l'injection d'une petite quantité de toxine soluble dans les veines.

En inoculant dans le tissu cellulaire d'un cobaye de 410 grammes, et dans le péritoine d'un cobaye de 415 grammes, dix gouttes du sérum d'un âne, dont le pouvoir agglutinatif était de 1 pour 30,000, nous avons vu apparaître la réaction dans le sérum au bout d'une demi heure. Le pouvoir agglutinatif était alors de 1 pour 10. Ce pouvoir, mesuré de 2 heures en 2 heures, atteint son maximum au bout de 10 heures. Il était pour le premier cobaye, à ce moment, de 1 pour 180, et pour le second, de 1 pour 250. Ce pouvoir, mesuré les jours suivants, s'abaissa rapidement à 1 pour 80, 1 pour 50, 1 pour 10, et dix jours après l'inoculation, le sérum n'était plus agglutinatif.

M. Bordet, injectant à un cobaye de 360 grammes 1 c. c. de sérum cholérique préventif bien actif, avait déjà trouvé que le sérum de cet animal, 24 heures après l'inoculation, agglutinait

1. F. WIDAL, *Bulletin de la Société médicale des Hôpitaux*, 16 octobre 1896, p. 703.

2. CHANTEMESSE, *Bulletin de la Société médicale des Hôpitaux*, 2 avril 1897.



déjà le bacille cholérique. Le sérum de l'animal à cette date était toutefois moins actif que le choléra-sérum injecté la veille. M. Bordet, évaluant à 30 c. c. la quantité de sang du cobaye en expérience, conclut que les choses se sont passées comme si l'on avait simplement dilué 1 c. c. de sérum dans 30 c. c. d'un liquide.

Si l'on songe que l'agglutination acquise par les cobayes après inoculation du bacille d'Eberth peut persister pendant de longs mois, comme l'a montré M. Gruber et comme nous avons pu le constater ensuite sur le lapin<sup>1</sup>, on voit que nos expériences montrent toute la différence qui sépare l'agglutination passivement acquise de l'agglutination activement acquise par injection de cultures microbiennes. Il en est de l'agglutination passive comme de l'immunité passive : elle s'installe vite, mais ne tient pas.

Des expériences, que nous poursuivons, nous ont montré qu'on pouvait obtenir, chez un même animal, un sérum doué de propriétés agglutinatives à la fois pour le bacille typhique et pour le vibrion cholérique. Cette superposition de double réaction peut s'obtenir soit par injection simultanée d'un mélange de culture typhique et cholérique, soit par inoculations successives de ces cultures. L'inoculation de la seconde culture peut être faite alors même que le sérum de l'animal en expérience a déjà acquis la réaction agglutinante vis-à-vis de la première. Nous avons pu constater ces faits pour quatre espèces de vibrions cholériques : Paris 1884, Prusse orientale, Constantinople, Massaouah. Des recherches sur la puissance agglutinative d'un même sérum vis-à-vis des deux microbes, nous ont montré déjà que la réaction typhique était plus précoce et plus intense que la réaction cholérique. Nous donnerons ultérieurement le rapport exact de ces deux réactions superposées.

On peut, par inoculations répétées, obtenir chez un animal un pouvoir agglutinatif très intense. Un âne que nous avons inoculé ainsi depuis neuf mois, possède actuellement un pouvoir agglutinatif de 1 pour 43,000.

1. Un lapin inoculé au mois de juillet 1896 avec 1 c. c. de culture typhique, possédait encore la réaction au mois de janvier 1897, c'est-à-dire après six mois, mais l'avait complètement perdue après neuf mois.

Dans les premières semaines ou dans les premiers mois de la convalescence, la réaction agglutinante, chez l'homme, s'atténue le plus souvent et dans quelques cas disparaît même complètement.

Nous avons rapporté dans un mémoire précédent<sup>1</sup> que, chez deux malades, nous avons pu assister à la disparition complète du phénomène; l'un était au dix-huitième, l'autre au vingt-quatrième jour de la défervescence.

Les courbes de mensuration données au chapitre suivant nous montrent, dans plusieurs observations minutieusement suivies, la marche stationnaire de la réaction durant les premiers mois de la convalescence. Dans les autres observations, nous assistons, au contraire, au décroissement progressif du pouvoir agglutinatif.

M. Lemoine, M. Achard et Bensaude, dans un cas de fièvre typhoïde de courte durée, n'ont plus obtenu de réaction dix jours après le début de l'apyrexie. Breuer a confirmé nos résultats et a vu chez deux malades le pouvoir agglutinatif disparaître au dix-septième jour et au vingt-cinquième jour de la convalescence. MM. Thiercelin et Lenoble n'ont plus retrouvé la réaction vingt jours après la fin d'une rechute. M. Courmont a suivi chez un enfant la disparition progressive de la séroréaction, disparition qui était complète au bout de deux mois. Chez trois enfants qui avaient été soignés pour des fièvres typhoïdes légères, M. C. Frankel n'a pas trouvé de réaction après quelques jours de convalescence. Chez un malade, Eug. Fraenkel<sup>2</sup> n'a pu constater le phénomène après vingt-huit jours d'apyrexie.

La possibilité de cette disparition rapide nous prouve une fois de plus que la réaction agglutinante est bien avant tout une réaction de la période d'infection.

La persistance très fréquente du phénomène pendant les premiers mois qui suivent la défervescence, permet, dans quelques cas, la possibilité d'un diagnostic rétrospectif.

Chez deux malades du Dr Blanquinque<sup>3</sup> (de Laon), l'examen

1. WIDAL ET SICARD, *Recherche sur les propriétés agglutinatives et bactéricides du sérum des convalescents de fièvre typhoïde*. (Acad. de méd., 29 sept. 1896.)

2. EUG. FRAENKEL, Zur Widal'schen serumreaction. *Munchener medic. Wochenschrift*, 1897, n° 5.

3. BLANQUINQUE, *Académie de médecine*, 26 janvier 1896, et *Gazette hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie*, 4 février 1897, p. 109.

du sérum fait pendant la convalescence permet seul d'affirmer que ces sujets avaient été atteints de fièvre typhoïde et non de psittacose, comme on l'avait supposé.

M. Paul Courmont, chez un malade atteint de névrites multiples, à la suite d'une prétendue dysenterie, dont il était convalescent depuis un mois et demi, a pu, grâce à la séroréaction, établir que ce malade était en réalité convalescent de fièvre typhoïde.

M. Achard a montré récemment comment la séroréaction lui a permis dans un cas de reconnaître l'origine typhique d'une ostéomyélite, chez un malade guéri de son infection aiguë depuis un an.

Depuis nos premiers travaux sur le sérodiagnostic, nous avons à diverses reprises recherché la réaction agglutinante chez des sujets guéris de la fièvre typhoïde. Notre dernière statistique portait sur vingt-deux sujets guéris de la fièvre typhoïde depuis un an au moins et vingt-six ans au plus.

Chez trois d'entre eux seulement, guéris l'un depuis trois ans, l'autre depuis sept ans, l'autre enfin depuis neuf ans, nous avons obtenu une réaction instantanée et des plus marquées, après mélange d'une goutte de sérum pour dix de culture. Tous trois avaient souffert d'une fièvre typhoïde grave prolongée et à rechute. Le sérum de celui guéri depuis sept ans (l'un de nous) agglutinait encore fortement les bacilles à l'état naissant dans la proportion de une goutte pour 150 de bouillon. Chez trois personnes guéries depuis dix-huit mois, deux ans et trois ans, les deux premières d'une fièvre typhoïde de gravité moyenne, la troisième d'une fièvre typhoïde grave et prolongée, nous avons constaté encore une réaction légère.

Notre statistique actuelle porte sur quarante cas. Dans onze d'entre eux, nous avons trouvé une agglutination forte ou légère.

Chez un sujet guéri depuis huit ans, le pouvoir agglutinatif était encore de 1 pour 1,800. Il était de 1 pour 30 chez un sujet guéri depuis 26 ans, de 1 pour 40 chez un sujet guéri depuis neuf ans, de 1 pour 30 chez un autre sujet guéri également depuis neuf ans, de 1 pour 10 chez un sujet guéri depuis six ans.

Lorsque la réaction agglutinante persiste chez des personnes guéries depuis plusieurs années, son pouvoir, mesuré à quelques jours ou quelques semaines d'intervalle, ne semble pas subir



d'oscillations semblables à celles que l'on observe pendant l'infection. C'est du moins la conclusion à laquelle nous sommes arrivés après avoir mesuré à plusieurs reprises le pouvoir de deux personnes guéries depuis huit et neuf ans.

Ces faits nous montrent avec quels soins il faut, pour éviter une erreur de sérodiagnostic, établir l'anamnèse d'un individu suspect de dothiéntérie dont le sang donne la réaction agglutinante. Il ne faut pas seulement rechercher dans les souvenirs des malades ou de leur entourage une fièvre typhoïde avérée, mais aussi la fièvre dite muqueuse et l'embarras gastrique fébrile. Les statistiques de médecins de l'armée, celles de M. Lemoine, de M. Catrin, de MM. Battle et Villès nous ont montré que le sérodiagnostic seul pouvait, dans certains cas, permettre de distinguer la typhoïdette de l'embarras gastrique. Nous avons observé des faits semblables. M. Dupaquier vient de montrer les services rendus par la méthode pour la distinction souvent si difficile des fièvres continues de la Louisiane.

La réaction agglutinante peut s'observer dans les formes frustes évoluant *sans fièvre* et sans symptôme de fièvre typhoïde. M. Bondet<sup>1</sup> vient d'en rapporter une observation. Chez sa malade, on avait pensé à la dothiéntérie, parce qu'elle s'était beaucoup fatiguée à soigner ses trois enfants, atteints de fièvre typhoïde; elle n'avait eu qu'un peu de céphalalgie, et quelques symptômes généraux, et n'avait cessé de se surmener. Malgré l'apyrexie complète et l'absence de signes classiques, on fit trois fois le sérodiagnostic, qui fut constamment très positif. En raison des signes stéthoscopiques, on ne crut alors qu'à une péricardite à bacille d'Eberth; au bout de six jours, on permit à la malade de manger; elle fut prise le soir même de péritonite par perforation. A l'autopsie, on constata des ulcérations intestinales typiques. La liste serait longue à dresser de tous les cas anormaux de fièvre typhoïde, ainsi décelés par le sérodiagnostic.

Une infection typhique légère ou anormale peut ne pas avoir été reconnue dans le passé d'un malade présentant des symptômes suspects, et l'on conçoit que, par exception, le sérodiagnostic puisse porter injustement le poids d'une ancienne erreur de diagnostic commise par la clinique. M. C. Frankel et M. Stern ont avec raison insisté également sur ce point.

1. BONDET, *Soc. nationale de médecine de Lyon*, 15 fév. 1897.

## LA MENSURATION DU POUVOIR AGGLUTINATIF

Nous avons montré, dans les chapitres précédents, par quels procédés on peut mettre facilement et rapidement en évidence la réaction agglutinante du sérum de typhiques. Nous avons établi récemment que l'on pouvait faire plus encore que constater la réaction, et que l'on pouvait mesurer la puissance agglutinative d'un sérum suspect<sup>1</sup>. Il était donc naturel de chercher si cette mensuration faite aux diverses périodes de la maladie ne nous permettrait pas de tirer des déductions intéressantes pour la pratique ou pour la théorie.

Nous avons, depuis quelques mois, suivi l'observation de trente-trois malades atteints de fièvre typhoïde, et, chaque fois que nous avons pu le faire, nous avons mesuré à diverses reprises le pouvoir agglutinatif de leur sérum pendant la maladie, la rechute ou la convalescence.

Avant de relater ces observations et de comparer les chiffres ainsi obtenus, commençons par étudier les règles à suivre pour l'étude du pouvoir agglutinatif.

Nous avons d'abord proposé le procédé suivant de mensuration. On prépare une série de tubes stériles contenant 1, 2, 3, 4, 5 c. c., etc., de bouillon. On ajoute à chacun d'eux une goutte du sérum à examiner, on ensemence avec une trace de culture, et l'on examine après quelques heures de séjour à l'étuve à 37°. Si le tube contenant 3 c. c. par exemple est clarifié et laisse déposer des amas bacillaires sous forme de flocons ou de grumeaux, et si celui contenant 4 c. c. est trouble, on peut en conclure que la clarification s'exerce entre 1 pour 60 et 1 pour 80. Chez les typhiques à la période d'état, la limite de clarification du sérum atteint souvent 1 pour 100, et dépasse parfois ce chiffre. Nous avons montré, dans un chapitre précédent, qu'il fallait examiner le tube fréquemment dans les premières heures qui suivent l'ensemencement, pour ne pas manquer dans certains cas d'observer la clarification.

Nous avons montré également que la limite de clarification était loin de correspondre à la limite du pouvoir agglutinatif. Si

1. WIDAL ET SICARD, *Acad. de méd.* 29 sept. 1896. — *Société de Biologie*, 29 fév. 1897, et *Presse médicale*, 6 mars 1897.

L'on emploie des solutions plus étendues de bouillon et de sérum, on obtient des cultures troubles, boueuses et même moirées, donnant un léger dépôt qui, par agitation, se résout en petites poussières flottant dans le liquide, mais n'arrive pas à se dissoudre complètement. L'examen microscopique montre encore dans de tels tubes la présence d'amas caractéristiques.

Bien plus, l'expérience nous a montré que les bacilles déjà formés dans une culture en bouillon âgée de vingt-quatre ou quarante-huit heures sont un peu plus sensibles à l'action du sérum que les bacilles impressionnés à l'état naissant.

Si les chiffres de mensuration obtenus par M. Stern<sup>1</sup> dans sa première statistique ont été supérieurs à ceux obtenus par nous, c'est parce que cet auteur faisait agir ses sérums sur des bacilles déjà formés. Les chiffres des deux statistiques n'étaient pas comparables, puisqu'ils avaient été obtenus par des méthodes différentes. Le procédé extemporané, qui avait permis à M. Stern de constater chez un malade un pouvoir agglutinatif de 1 pour 1,000, chez un autre malade un pouvoir de 1 pour 2,000, et qu'avait employé également MM. Shéridan Delépine<sup>2</sup> nous ayant paru depuis le plus sensible et le plus rapide pour les mensurations, c'est lui que nous avons adopté.

Voici la technique que nous proposons :

Lorsque l'on étudie pendant plusieurs semaines le pouvoir agglutinatif chez le même malade, on doit autant que possible se servir d'un bouillon de même provenance, réparti à l'avance en différents tubes que l'on ensemence au fur et à mesure des besoins. Il faut de plus, pour chaque examen, employer toujours des cultures ayant passé le même temps à l'étuve à 37°, soit vingt-quatre, soit quarante-huit heures, par exemple. On opère ainsi avec des éléments aussi comparables que possible. On commence par pratiquer le sérodiagnostic par notre procédé ordinaire, en mélangeant 1 goutte de sérum à 10 gouttes d'une culture jeune; une goutte de ce mélange déposée entre lame et lamelle est examinée au microscope. Ce premier examen sert de guide et permet, avec un peu d'habitude, de voir approximativement si ce pouvoir est faible, moyen ou intense, et peut éviter bien des tâtonnements.

1. R. STERN, *Centralblatt für innere Medicin*, 1896, n° 49.

2. SHERIDAN DELÉPINE, On the « serodiagnosis ». *The Lancet*, 5 décembre et 12 décembre 1896.



Supposons que le pouvoir agglutinatif nous ait semblé faible ou moyen. Pour le mesurer, nous commencerons par faire deux dilutions du sérum et de la culture jeune, l'une à 1 pour 50, et l'autre à 1 pour 100. Les gouttes mélangées doivent naturellement être aussi égales que possible.

Si une préparation microscopique, faite avec le tube contenant une solution à 1 pour 50, ne présente, après un quart d'heure ou une demi-heure, aucune tendance à l'agglutination, on fait des dilutions progressives à 1 pour 40, 1 pour 30, 1 pour 20.

Si, au contraire, la solution à 1 pour 50 donne des amas au microscope, et si la dilution à 1 pour 100 n'en donne pas, on fait de nouvelles dilutions à 1 pour 60 et à 1 pour 80, pour saisir la limite du pouvoir agglutinatif qui doit se trouver comprise entre 1 pour 50 et 1 pour 100.

Si la dilution à 1 pour 100 donne des amas, on fait de nouvelles dilutions à 1 pour 150 et à 1 pour 200, etc., et l'on poursuit jusqu'à ce qu'on ait obtenu une dilution qui ne donne pas de centres agglutinatifs sur une préparation faite depuis deux heures. L'agglutination est facilitée par une sorte d'action physique dans la goutte du mélange, ainsi maintenue entre lame et lamelle.

Si le pouvoir agglutinatif est très intense, on a tout avantage à le mesurer en opérant par dilutions successives.

Supposons un sérum possédant un pouvoir agglutinatif dépassant 1 pour 1,000; pour le mesurer, on ajoutera d'abord 1 goutte de ce sérum à 99 gouttes de bouillon vierge.

Si l'on mélange une goutte de cette dilution à 1/100 à 9, 11, 14 gouttes de culture jeune, et si l'on examine successivement au microscope chacun de ces trois mélanges, on pourra voir si le pouvoir agglutinatif du sérum à l'étude s'exerce entre 1 pour 1,000 et 1 pour 1,500.

Aucun appareil spécial n'est nécessaire; l'usage de la pipette graduée de l'hématimètre est même inutile.

Il faut avant tout opérer avec des gouttes de sérum et de culture, aussi égales que possible. On commence par préparer des tubes de verre de 20 à 25 centimètres de longueur; on les bouche avec de l'ouate à leurs deux extrémités, et on les stérilise. On étire ces tubes par leur milieu et on les laisse refroidir.

Lorsqu'on veut mesurer un pouvoir agglutinatif, on brise le milieu de l'effilure de l'un des tubes ainsi préparés, et l'on a deux pipettes jumelles, dont les extrémités sont de calibre sensiblement égal.

Quelques gouttes de sang recueillies au bout du doigt suffisent pour mesurer le pouvoir agglutinatif; il est inutile de puiser le sang aseptiquement dans la veine. Nous avons vu précédemment qu'un sérum, même impur, pouvait garder presque intégralement pendant plusieurs mois sa propriété agglutinante, et l'on conçoit que, dans la pratique, un sérum puisse être conservé pendant plusieurs jours, sans que son pouvoir agglutinatif soit diminué.

L'expérience suivante prouvera avec quelle facilité le sang dont on veut mesurer le pouvoir agglutinatif peut être transmis à distance. Nous avons recueilli le sang de deux typhiques dans des tubes propres mais non stérilisés, et nous en avons mesuré le pouvoir agglutinatif. Ces tubes, fermés ensuite avec des bouchons propres mais non bouillis, ont été envoyés de Paris à Marseille à un de nos confrères qui nous renvoya la boîte à Paris sans l'ouvrir. Ce trajet d'aller et retour ne dura pas moins de cinq jours. Le sérum avait été très fortement coloré après ce long ballonnement au contact du caillot, mais le pouvoir agglutinatif était sensiblement égal à ce qu'il était au départ. Cet exemple nous montre donc qu'un praticien peut envoyer en toute sécurité dans un laboratoire du sang pris au bout du doigt et recueilli dans un tube de verre fermé avec un bouchon de liège propre. Ce sang peut servir non seulement au sérodiagnostic, mais à la mensuration du pouvoir agglutinatif.

La limite exacte du pouvoir agglutinatif est parfois assez délicate à fixer. Il faut toujours s'arrêter au moment où l'on ne trouve plus de centres agglutinatifs assez nets, pour ne laisser aucun doute dans l'esprit. Nous avons proposé de laisser reposer la préparation pendant une ou deux heures. M. Stern a choisi la période de deux heures; nous l'acceptons volontiers, mais il est inutile de compliquer la technique en laissant cette préparation pendant deux heures à l'étuve à 37°, comme le veut cet auteur. Si, à partir du moment où l'on ne constate plus de centres agglutinatifs, on poursuit encore la dilution, on peut encore observer une influence exercée sur

les bacilles par le sérum. Ces bacilles ont tendance à se rapprocher, mais ils ne s'accrochent plus; ils ont perdu une partie de leur mobilité, mais le phénomène n'est plus assez net pour être enregistré. Ainsi un sérum dont la limite du pouvoir agglutinatif était de 1 pour 7,000 exerçait encore une influence sur les bacilles à 1 pour 8,000, à 1 pour 9,000 et à 1 pour 10,000, mais n'arrivait plus à les agglutiner; le dernier terme de cette influence était une sorte de sidération des microbes.

Nous avons souvent fait la constatation suivante. Un tube contenant une dilution faible de sérum dans une culture en bouillon est laissé pendant 24 heures à l'étuve, à 37°. Après ce temps, on ne voit pas d'agglutination appréciable à l'œil nu. On place une goutte entre lame et lamelle, et on ne voit que des bacilles mobiles. Au bout de quelques minutes, on commence à voir des centres agglutinatifs et, au bout d'un quart d'heure, d'une demi-heure ou d'une heure, des amas nets se sont formés dans cette préparation. Ainsi, le sérum peut être en contact pendant 24 heures à l'étuve à 37° avec des bacilles flottant dans une épaisse couche de liquide sans produire d'agglutination, et il suffit de placer une goutte du mélange en mince couche, étalée entre lame et lamelle, pour voir apparaître des agglomérats jusque-là absents.

L'agglutination est donc bien facilitée par une sorte d'action physique, au contact de la lame et de la lamelle; elle est facilitée encore par la dessiccation qui s'opère au niveau des bords de cette lamelle. Si l'on met à la chambre humide la préparation qui vient d'être faite, l'agglutination met beaucoup plus de temps à apparaître; il suffit de placer, après quelques heures, la préparation à l'air libre pour hâter la formation des amas.

On comprend donc qu'à l'examen de diverses gouttes du même mélange, on puisse observer des différences dans le temps de l'agglutination, suivant que la goutte interposée entre lame et lamelle est plus ou moins épaisse, suivant que cette lame et cette lamelle s'appliquent plus ou moins exactement, c'est-à-dire suivant que l'évaporation est plus ou moins rapide.

Si le parallélisme des deux surfaces de verre n'est pas exact, il arrive qu'en certains points de la préparation les bacilles paraissent plus rares, moins mobiles. Si l'on cherche ce que sont devenus les autres microbes, on les retrouve en parcourant la



préparation sur d'autres points, surtout au niveau des bords de la lamelle ou autour des bulles d'air s'il en existe. C'est également en ces points que l'on retrouve parfois le plus d'amas.

Lorsqu'on examine une goutte pendante en lame creuse, on est à l'abri des variations dues à la dessiccation, mais c'est encore sur les bords de la goutte que l'on voit d'abord les amas se grouper, là où les microbes entrent en contact plus étroit avec la lamelle. La préparation d'une série de lames creuses rend plus longue et plus compliquée la mensuration du pouvoir agglutinatif.

Les faits que nous venons de rapporter nous expliquent pourquoi deux gouttes puisées dans le même mélange de culture et de sérum, et placées chacune séparément entre lame et lamelle, peuvent parfois présenter de légères différences dans le temps de l'agglutination et dans l'ordination des amas. Si l'on n'était prévenu, on pourrait croire, dans certains cas, que les préparations ont été faites avec des mélanges différents. Sur des préparations au repos depuis deux heures, ces écarts deviennent presque insensibles.

Ces faits nous enseignent enfin que, dans la mensuration du pouvoir agglutinatif, comme dans la pratique du sérodiagnostic, il ne faut pas se perdre dans l'appréciation des nuances; on ne doit jamais rester sur une hésitation; il ne faut jamais s'arrêter, au contraire, qu'à la constatation de phénomènes assez nets et assez catégoriques pour ne prêter à aucun doute dans leur appréciation.

Les règles de technique étant posées, voyons les enseignements fournis par l'étude comparée du pouvoir agglutinatif chez les typhiques.

Ce pouvoir présente des variations très grandes suivant les sujets, et suivant les périodes de la maladie où on le recherche. Nos observations peuvent être classées en cinq séries distinctes, suivant que le pouvoir agglutinatif a été très faible, c'est-à-dire inférieur à 1 p. 100; faible, c'est-à-dire oscillant entre 1 p. 100 et 1 p. 200; moyen, c'est-à-dire oscillant entre 1 p. 200 et 1 p. 500; intense, c'est-à-dire oscillant entre 1 p. 500 et 1 p. 2,000; très intense, dépassant 1 p. 2,000.

Étudions ces observations ainsi groupées, en mettant le

résumé de l'histoire clinique en regard de l'intensité du pouvoir agglutinatif <sup>1</sup>.

I. — CAS A POUVOIR AGGLUTINATIF TRÈS FAIBLE, INFÉRIEUR A 1 POUR 100.

OBS. I. — Fièvre typhoïde légère, sans symptômes de gravité, ni phénomènes d'intoxication. Déferescence complète le 23<sup>e</sup> jour. Pouvoir agglutinatif faible.

*Mesures du pouvoir agglutinatif.*

20 <sup>e</sup> jour de la maladie.....	1 pour 30
22 <sup>e</sup> jour de la maladie.....	1 — 40
4 <sup>e</sup> jour de la déferescence ( 26 <sup>e</sup> jour de la maladie). ..	1 — 40
32 <sup>e</sup> jour de la déferescence.....	1 — 20

OBS. II. — Fièvre typhoïde très bénigne, du type abortif. Quinze jours de durée. Le pouvoir agglutinatif mesuré seulement pendant la convalescence était très faible.

*Mesures du pouvoir agglutinatif.*

5 <sup>e</sup> jour de l'apyrexie.....	1 pour 80
17 <sup>e</sup> jour de l'apyrexie.....	1 — 20

OBS. III. — Fièvre typhoïde légère, sans aucun symptôme de gravité, chez une femme enceinte. La grossesse continue son évolution. Un érysipèle survient le 25<sup>e</sup> jour de la maladie, au moment où la température était en décroissance. La malade envoyée à ce moment à l'hôpital des contagieux est perdue de vue. Le pouvoir agglutinatif s'est montré léger, et n'a pas été modifié par l'apparition d'un érysipèle.

*Mesures du pouvoir agglutinatif.*

14 <sup>e</sup> jour de la maladie.....	1 pour 80
20 <sup>e</sup> jour de la maladie.....	1 — 60
25 <sup>e</sup> jour de la maladie (1 <sup>er</sup> jour de l'érysipèle).....	1 — 50
29 <sup>e</sup> jour de la maladie (5 <sup>e</sup> jour de l'érysipèle).....	1 — 50

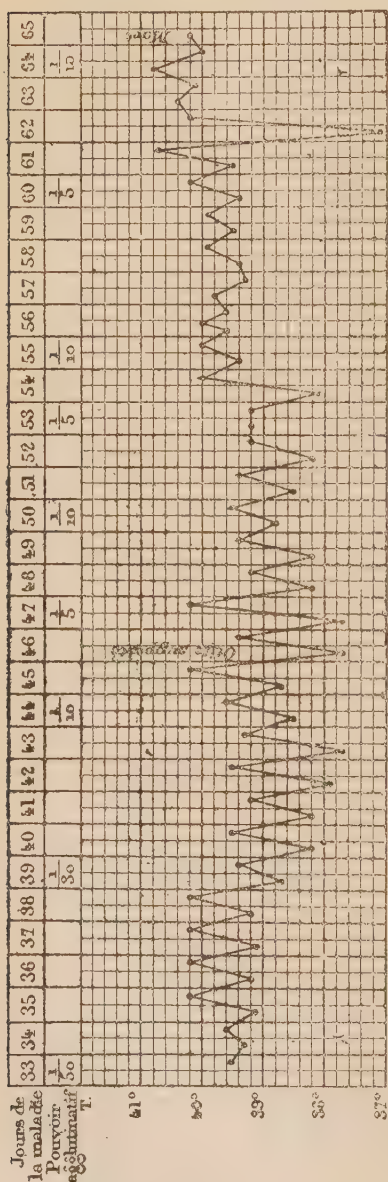
1. Un certain nombre de ces observations ont déjà été publiées le 6 mars 1897 dans la *Presse médicale*; mais beaucoup d'entre elles ont été complétées par l'étude du pouvoir agglutinatif poursuivie pendant la convalescence.

OBS. IV. — Fièvre typhoïde très grave, de longue durée, chez une jeune femme de 24 ans. Phénomènes d'intoxication pro-

fonde, otite suppurée, terminaison par la mort. Cette femme, à l'entrée à l'hôpital, était au 33<sup>e</sup> jour de sa maladie. La température, au dire de sa famille, serait déjà tombée quelques jours avant l'entrée à l'hôpital, puis serait remontée brusquement. Mort le 63<sup>e</sup> jour.

Tout l'intérêt de cette observation est dans la courbe du pouvoir agglutinatif, comme le démontre le tracé ci-joint. A l'entrée de la malade, malgré l'intensité et la longue durée de l'intoxication, le pouvoir agglutinatif est faible et seulement de 1 pour 50. Malgré la continuation de l'infection, ce pouvoir va diminuer jusqu'à 1 pour 10 et 1 pour 5, oscillant entre ces deux chiffres d'un jour à l'autre pendant 3 semaines, et va s'abaisser à tel point que, certains jours, il faut laisser reposer la préparation, pendant une ou deux heures, après mélange à 1 pour 5, pour assister à la formation des amas.

Cette observation nous montre donc, au cours d'une forme grave, toxique et prolongée, un pouvoir agglu-



Observation IV.



tinatif faible, diminuant à mesure que l'infection progresse, et variable d'un jour à l'autre.

## II. — CAS A POUVOIR AGGLUTINATIF FAIBLE, DE 1 POUR 100 A 1 POUR 200

Nous commençons par donner trois observations dans lesquelles le pouvoir agglutinatif n'a pu être mesuré que pendant la rechute.

OBS. V. — Fièvre typhoïde, de moyenne intensité, chez un jeune homme de 24 ans. Première attaque de 28 jours de durée. Après 11 jours d'apyrexie, rechute de 42 jours de durée. Abscès sous-cutanés multiples, pendant toute cette rechute. Le pus ne contient que des staphylocoques dorés.

*Taux du pouvoir agglutinatif, mesuré seulement pendant la rechute.*

13 <sup>e</sup> jour de la rechute.....	1 pour 150
30 <sup>e</sup> jour de la rechute.....	1 — 50
39 <sup>e</sup> jour de la rechute.....	1 — 60
7 <sup>e</sup> jour de l'apyrexie définitive.....	1 — 250

En résumé, après cette longue période d'infection (80 jours), le pouvoir agglutinatif du sérum de ce malade était faible, et, durant la rechute, il était tombé de 1 pour 150 à 1 pour 50, malgré la persistance de la fièvre; puis il est remonté à la fin de la maladie.

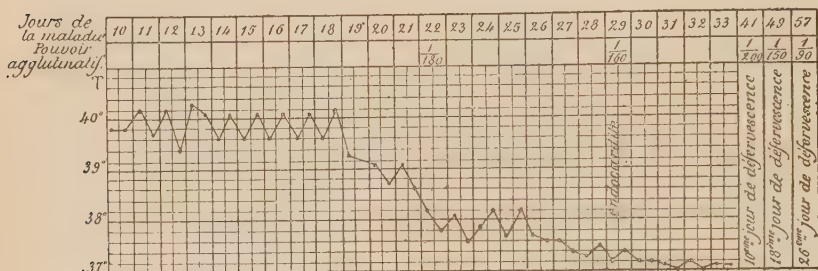
OBS. VI. — Fièvre typhoïde, de moyenne intensité. Évolution en 37 jours, sans phénomènes d'intoxication et sans complications. Rechute tardive, de 5 jours de durée, survenue après 30 jours d'apyrexie. Le pouvoir agglutinatif, mesuré seulement pendant la rechute, n'était que moyennement élevé.

*Mesures du pouvoir agglutinatif.*

1 <sup>er</sup> jour de la rechute (69 <sup>e</sup> jour de la maladie).....	1 pour 180
5 <sup>e</sup> jour de la rechute (73 <sup>e</sup> jour de la maladie).....	1 — 200
12 <sup>e</sup> jour de la rechute (80 <sup>e</sup> jour de la maladie).....	1 — 120

OBS. VII. — Fièvre typhoïde, chez un jeune homme. La première attaque, de moyenne intensité, caractérisée surtout par une céphalée intense, dure 32 jours. 26 jours d'apyrexie. Rechute de 26 jours de durée. Pas de délire, pas d'abattement,

ni stupeur; le malade conserve toute sa connaissance, comme pendant la première attaque. La température s'élève pendant plusieurs jours à 40°. Le pouvoir agglutinatif, mesuré seule-

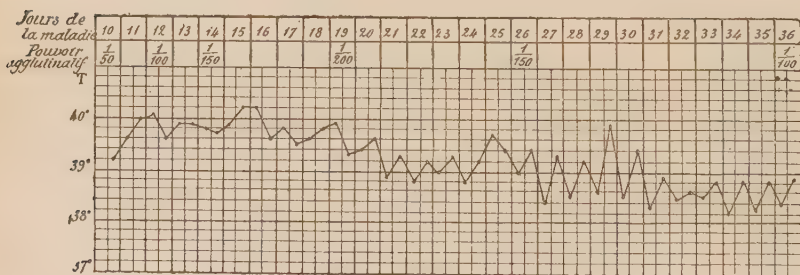


Observation VIII.

ment pendant l'infection, est peu intense, surtout eu égard au temps qu'a duré cette infection.

### Mesures du pouvoir agglutinatif.

5 <sup>e</sup> jour de la rechute (62 <sup>e</sup> jour du début).....	1	pour	100
10 <sup>e</sup> jour de la rechute (67 <sup>e</sup> jour du début).....	1	—	100
16 <sup>e</sup> jour de la rechute (73 <sup>e</sup> jour du début).....	1	—	80
26 <sup>e</sup> jour de la rechute (83 <sup>e</sup> jour du début).....	1	—	150



Observation IX.

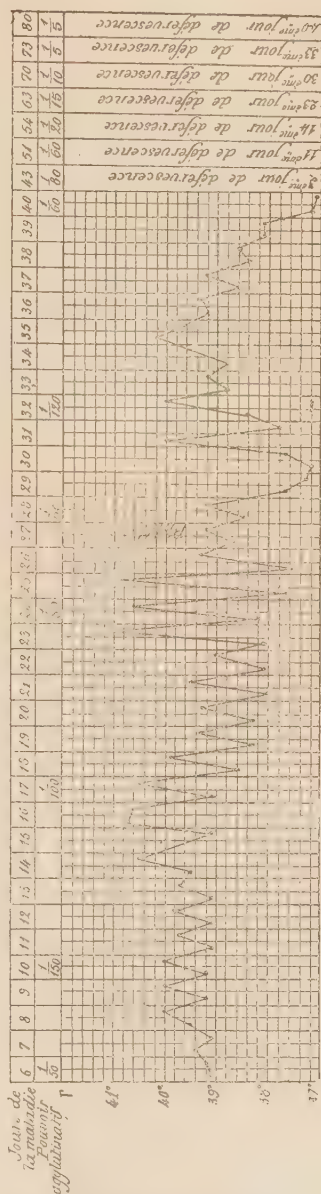
Obs. VIII. — Fièvre typhoïde chez jeune femme de 24 ans, sans grands phénomènes d'intoxication, à début assez brusque, avec défervescence rapide. Au cours de la convalescence, et sans nouvelle réaction fébrile, phénomènes graves de collapsus, laissant à leur suite un souffle d'insuffisance mitrale.

Le pouvoir agglutinatif n'a pu être mesuré que tardivement. Il s'est toujours montré relativement peu élevé, ne dépassant pas 1/200.

Obs. IX. — Homme de 36 ans. Fièvre typhoïde sans grands phénomènes d'intoxication, pendant les deux premiers septénaires. Le malade est sans délire, malgré une haute température fébrile. Hémorragies intestinales assez fréquentes, au cours du troisième septénaire. Stupeur et surdité, à partir de ce moment. A partir du 14<sup>e</sup> jour, le pouvoir agglutinatif oscille entre 1 pour 150 et 1 pour 200 ; il était descendu à 1 p. 100 le 36<sup>e</sup> jour. Comme le montre la courbe, l'évolution fébrile n'est pas encore terminée.

Obs. X. — Fièvre typhoïde chez une jeune femme de 22 ans, de forme prolongée et compliquée de congestion pulmonaire et de phlébite sans grands phénomènes d'intoxication. Le pouvoir agglutinatif a présenté sans raison des oscillations (Voir le tracé ci-contre). De 1 pour 50 le 6<sup>e</sup> jour, il s'élève à 1 pour 150 le 10<sup>e</sup> jour, pour retomber à 1 pour 60 le 28<sup>e</sup> jour et remonter de nouveau à 1 pour 120 le 32<sup>e</sup> jour.

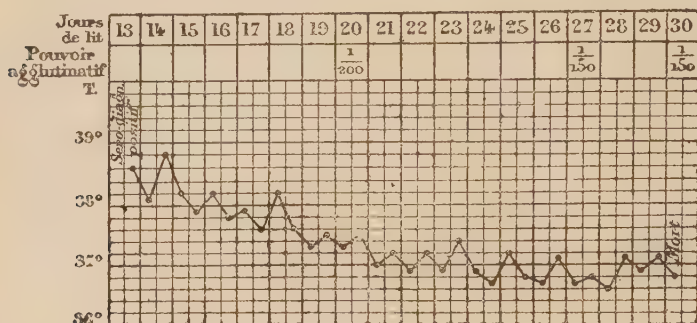
Le pouvoir agglutinatif s'abaisse progressivement dès les premiers jours de la convalescence ; il était tombé à 1 pour 5 le 40<sup>e</sup> jour et disparut le 52<sup>e</sup> jour de la défervescence.



Observation X.



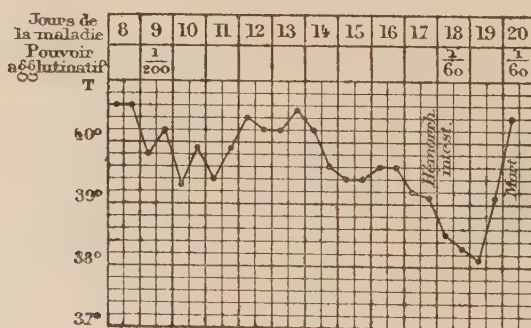
Obs. XI. — Fièvre typhoïde de moyenne intensité chez un homme de 34 ans. Mort le 12<sup>e</sup> jour de la défervescence par sup-  
puration rénale à bacilles d'Eberth et à coli-bacille.



Observation XI.

Le pouvoir agglutinatif, qui était relativement peu élevé, 1 pour 200 dans les derniers jours de la période fébrile, était tombé à 1 pour 150 la veille de la mort.

Remarquons que l'ensemencement du pus méningé nous a donné des cultures de bacilles se décolorant par le Gram. L'ensemencement en bouillon lactosé en déterminait la fermentation, mais l'action d'un sérum typhique provoquait une agglutination

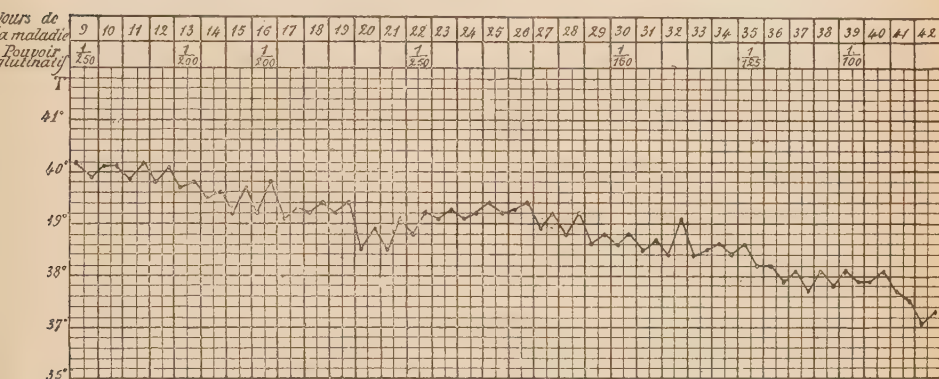


Observation XII.

des plus nettes. Sans la réaction agglutinante, on n'aurait vu sans doute que le coli-bacille dans le pus de cette localisation méningée, où le bacille d'Eberth aurait passé inaperçu. Le

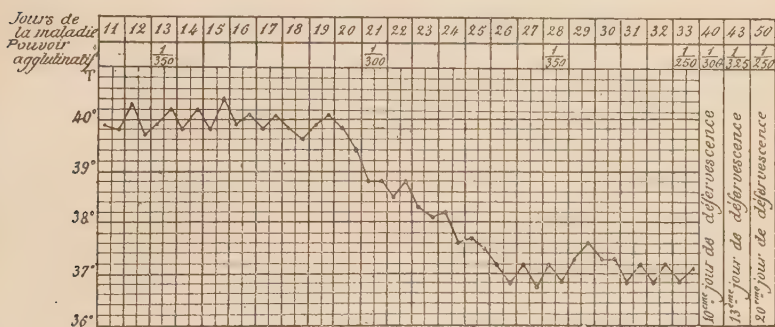
bacille d'Eberth fut retrouvé à l'état de pureté dans la rate.

OBS. XII. — Fièvre typhoïde hypertoxique chez une femme alcoolique de trente ans. Hémorragies intestinales. Mort en adynamie le 20<sup>e</sup> jour, sans complication. Malgré la recrudes-



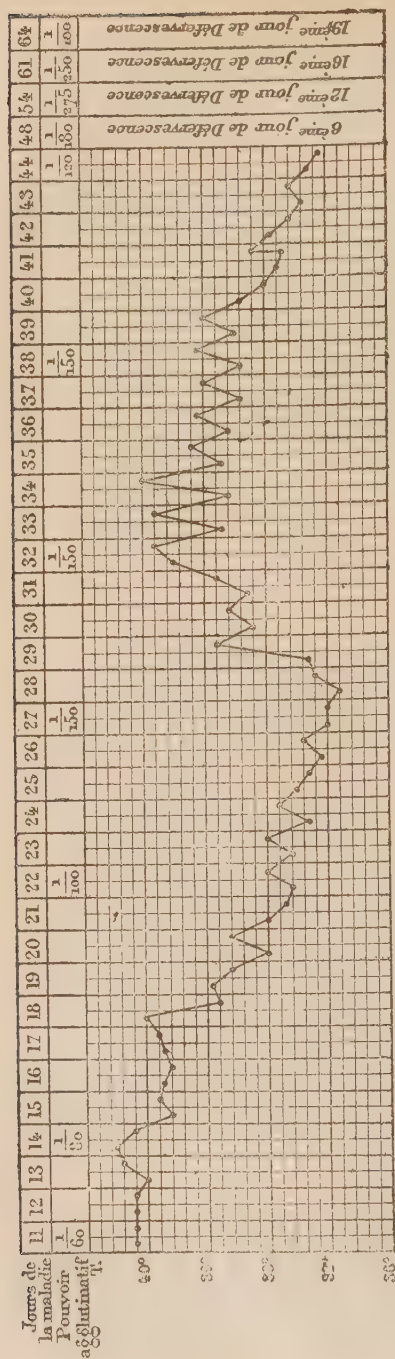
Observation XIV.

cence des phénomènes d'intoxication, le pouvoir agglutinatif qui, le 9<sup>e</sup> jour, était de 1 pour 200, tombe à 1 pour 60 le 18<sup>e</sup> jour et reste à ce taux le 20<sup>e</sup> jour, quelques heures avant la mort. C'est là le point intéressant de cette observation.



Observation XV.

OBS. XIII. — Fièvre typhoïde, légère, abortive, chez une jeune fille. La fièvre n'avait duré que quelques jours. Le pouvoir agglutinatif du sérum, mesuré une fois seulement pendant la convalescence, était de 1 pour 200.



Observation XVI.

### III. — CAS A POUVOIR AGGLUTINATIF MOYEN, DE 1 P. 200 A 1 P. 500.

Obs. XIV. — Fièvre typhoïde de moyenne intensité, mais d'assez longue durée, sept semaines environ, évoluant chez une femme de 25 ans, sans grands phénomènes d'intoxication. Symptômes classiques et complets dès le début. Hémorragies intestinales répétées, mais peu abondantes, au cours du troisième septénaire. Vers le 15<sup>e</sup> jour de la maladie, apparition de crises très douloureuses, localisées aux membres inférieurs, avec troubles vaso-moteurs et angoisse précordiale, crises s'atténuant et dans leur fréquence et dans leur intensité, pour disparaître vers le 30<sup>e</sup> jour. La courbe thermique n'a jamais été très élevée; la défervescence, lente et progressive, est complète au 43<sup>e</sup> jour de la maladie, et la convalescence est complètement assurée le 47<sup>e</sup> jour.

Le pouvoir agglutinatif, qui était de 1 p. 250 le 9<sup>e</sup> jour, s'est abaissé lentement, mais progressivement, pendant le cours de la maladie. Il était de 1 p. 100 le 43<sup>e</sup> jour,



2<sup>e</sup> jour de la défervescence, de 1 p. 80 les 47<sup>e</sup>, 52<sup>e</sup> et 56<sup>e</sup> jours. (Tracé p. 409.)

Obs. XV. — Fièvre typhoïde, chez une jeune fille de 19 ans, de moyenne intensité et sans complications. L'état général n'a jamais été grave, jamais grande stupeur. Malgré la température élevée des premiers jours, la défervescence s'est faite progressive et régulière.

Le pouvoir agglutinatif ne diminue que légèrement pendant les trois premières semaines de la convalescence. (Tracé p. 409.)

Obs. XVI. — Fièvre typhoïde avec rechute chez un homme de 32 ans. Pendant la rechute, les phénomènes généraux sont plus graves que ceux observés dans la première poussée. Cette rechute dure 14 jours; elle avait été séparée de la première attaque par une période d'apyrexie de 4 jours.

L'intérêt est dans la courbe du pouvoir agglutinatif. Ce pouvoir, faible au début, s'élève progressivement jusqu'à la fin de la première attaque. Mesuré pendant l'apyrexie, l'avant-veille de la rechute, il est plus élevé qu'il n'était à la période de déclin. Ce fait montre bien que le phénomène d'agglutination est indépendant de l'état d'immunité.

Le pouvoir agglutinatif, resté stationnaire pendant la rechute, s'élève le 12<sup>e</sup> jour de la défervescence pour s'abaisser bientôt les jours suivants. Cette augmentation du pouvoir pendant la défervescence est un fait qui mérite d'attirer l'attention.

Obs. XVII. — Fièvre typhoïde de longue durée chez une femme de 33 ans, mais sans gravité, sans phénomènes d'intoxication, avec pouvoir agglutinatif assez élevé. Ce pouvoir est tenace et n'a que peu diminué encore le 27<sup>e</sup> jour de la convalescence.

*Mesures du pouvoir agglutinatif.*

29 <sup>e</sup> jour de la maladie.....	4 pour 200
33 <sup>e</sup> jour de la maladie (3 <sup>e</sup> jour de la convalescence)..	4 — 250
10 <sup>e</sup> jour de la convalescence.....	4 — 200
20 <sup>e</sup> jour de la convalescence.....	4 — 200
26 <sup>e</sup> jour de la convalescence et 56 <sup>e</sup> jour de la maladie.	4 — 150

Obs. XVIII. — Fièvre typhoïde de moyenne intensité chez un homme de 26 ans. Rechute après une courte période

d'apyrexie. Cette rechute dure 18 jours et évolue sans autre phénomène d'intoxication, sans stupeur ni délire.

Le pouvoir agglutinatif n'a été mesuré que pendant la rechute. Relativement élevé vers le milieu de cette rechute, il s'abaisse rapidement dès les premiers jours de la convalescence.

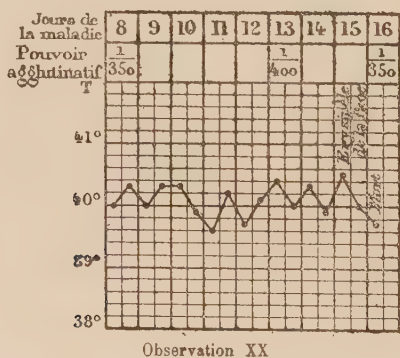
*Mesures du pouvoir agglutinatif.*

11 <sup>e</sup> jour de la rechute (42 <sup>e</sup> jour de la maladie).....	1	pour 230
17 <sup>e</sup> jour de la rechute (48 <sup>e</sup> jour de la maladie).....	1	— 250
6 <sup>e</sup> jour de la défervescence (34 <sup>e</sup> jour de la maladie).	1	— 175

OBS. XIX. — Fièvre typhoïde de moyenne intensité, chez un jeune homme, sans symptômes généraux graves. Défervescence complète le 23<sup>e</sup> jour. Convalescence rapide.

Le pouvoir agglutinatif, mesuré seulement le jour de l'entrée (15<sup>e</sup> jour de la maladie), était de 1 pour 400.

OBS. XX. — Fièvre typhoïde grave à forme toxique, chez un homme de 29 ans. Érysipèle de la face, survenu le 14<sup>e</sup> jour. Mort le 16<sup>e</sup> jour.



Observation XX

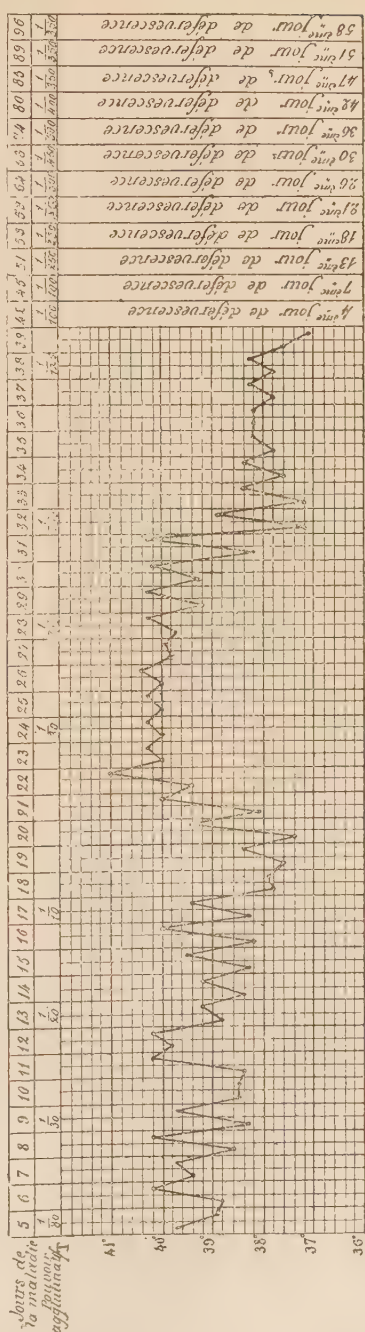
Le pouvoir agglutinatif est élevé dès le 8<sup>e</sup> jour de la maladie, et atteint 1 p. 350; il s'élève à 1 p. 400 le 14<sup>e</sup> jour, et revient à 1 p. 350 le 16<sup>e</sup> jour. Ajoutons que la sérosité péricardique recueillie à l'autopsie donne un pouvoir agglutinatif de 1 p. 60 seulement. Ce pouvoir est donc plus faible que celui du sérum. Nous avons déjà montré, en étudiant comparativement le sérum sanguin et le lait d'une chèvre puissamment immunisée, les différences considérables que l'on peut

observer entre le pouvoir agglutinatif du sérum sanguin et celui d'une humeur de l'économie. Comme dans le cas présent, l'avantage était au sérum.

OBS. XXI. — Fièvre typhoïde de longue durée (39 jours), survenue chez une jeune fille de 23 ans et s'étant faite en deux temps : [le premier avec des symptômes légers, le second avec des symptômes graves et toxiques. L'intérêt de cette observation est dans la courbe du pouvoir agglutinatif. (Voir le tracé.)

Cette courbe nous montre le taux du pouvoir agglutinatif à 1 p. 80 dès le 5<sup>e</sup> jour de la maladie. Elle nous montre surtout les oscillations que peut subir ce pouvoir chez certains sujets au cours de la maladie. Il était tombé progressivement pendant la première période de 1 p. 80 à 1 p. 10, pour remonter progressivement à 1 p. 150, pendant la seconde période fébrile.

A partir du 13<sup>e</sup> jour de la défervescence, le pouvoir agglutinatif s'élève progressivement à un taux qu'il n'avait jamais atteint pen-



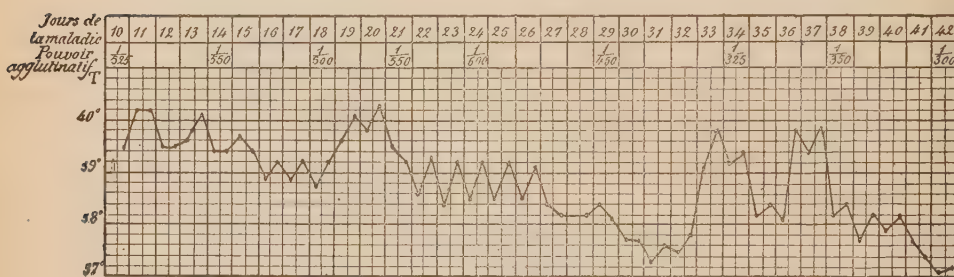
Observation XXI.

dant la maladie; il monte jusqu'à 1 p. 500; près de deux mois après la défervescence, il était encore de 1 p. 350.

IV. — CAS A POUVOIR AGGLUTINATIF PUISSANT, DE 1 p. 500 A 1 p. 2,000.

OBS. XXII. — Fièvre typhoïde chez une femme de 53 ans, avec rechute au 32<sup>e</sup> jour de la maladie. Adynamie prononcée, mais de courte durée, au cours de cette première poussée qui évolue du reste normalement. Deuxième poussée avec légères hémorragies intestinales et congestion pulmonaire passagère. Défervescence et convalescence assez rapides.

Le pouvoir agglutinatif est, au 10<sup>e</sup> jour, de 1 p. 525, puis,



Observation XXII.

comme le montre la courbe ci-jointe, il reste stationnaire, oscillant entre 500 et 600, au cours de 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> septénaire, pour redescendre dans la suite à peu près régulièrement jusqu'à 1 p. 300, malgré une rechute assez sérieuse.

OBS. XXIII. — Étudiant de 23 ans, malade depuis près de deux mois; lors de son entrée à l'hôpital, il avait été soigné en ville pour une grippe infectieuse d'abord; on avait pensé dans les derniers temps à une fièvre typhoïde.

Défervescence 4 jours après l'entrée à l'hôpital. Le malade, pendant ces 4 jours, n'avait présenté que des symptômes d'infection légère. Le 16<sup>e</sup> jour de la défervescence, le malade éprouve une violente crise douloureuse, au niveau du testicule droit. La température s'élève à 39°, et le testicule qui présentait déjà au préalable une induration, au niveau de l'épididyme, se tuméfie dans sa totalité et devient très douloureux. La fièvre ne tombe qu'après 4 jours, en même temps



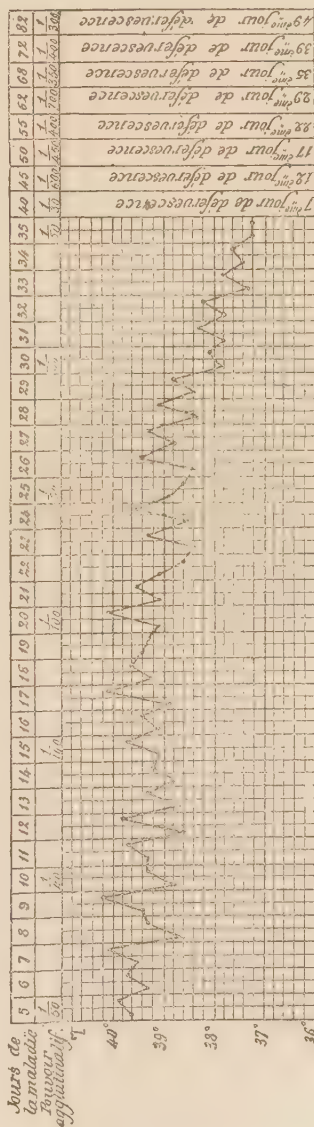
que la douleur s'atténue ; mais la tuméfaction persiste longtemps encore, ne décroît que lentement et était encore sensible 18 jours après le début de cette orchite typhique.

### Mensuration du pouvoir agglutinatif.

4 jours avant la fin de la défervescence 1 p. 600 ; 6<sup>e</sup> jour de la défervescence 1 p. 550 ; 13<sup>e</sup> jour de la défervescence 1 p. 250 ; 22<sup>e</sup> jour de la défervescence (7 jours après le début de l'orchite typhique) 1 p. 270 ; 31<sup>e</sup> jour de la défervescence 1 p. 430 ; 41<sup>e</sup> jour de la défervescence 1 p. 200.

OBS. XXIV. — Fièvre typhoïde, à début brusque, chez un alcoolique âgé de 23 ans. Forme ataxique grave, prolongée, mais sans complications. Depuis le 5<sup>e</sup> jour de la maladie jusqu'à la fin du cycle morbide, le pouvoir agglutinatif a été mesuré de 5 jours en 5 jours, et, malgré l'intoxication profonde, il est resté faible, oscillant entre 1 p. 60 et 1 p. 100. Il était de 1 p. 30 le 9<sup>e</sup> jour de la défervescence. Pendant les 15 premiers jours de la défervescence, le malade a continué à être agité et à souffrir de délire nocturne. Le pouvoir agglutinatif s'élève à 1 p. 600 le 12<sup>e</sup> jour de la défervescence, se maintient entre 1 p. 600 et 1 p. 700 pendant près de trois semaines et était encore de 1 p. 300, le 4<sup>e</sup> jour de la défervescence.

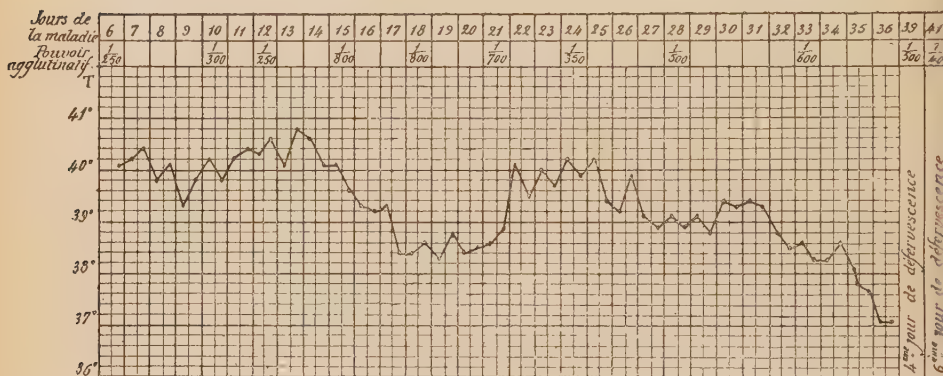
OBS. XXV. — Fièvre typhoïde à début brusque et à intoxi-



Observation XXIV

cation d'emblée très profonde, chez un jeune homme de 24 ans. Ataxo-adynergie très accusée. Amendement rapide des symptômes sous l'influence de la balnéation. Pas de complications pulmonaires. Deux hémorragies intestinales assez abondantes pendant le second septénaire. Eschare sacrée et légère éruption furonculaire des membres inférieurs, le 14<sup>e</sup> jour.

Le 21<sup>e</sup> jour, la température, oscillant entre 38 et 39° depuis quelques jours, remonte à 40°. L'état général devient grave à nouveau, hématuries, infection secondaire à streptocoques,



Observation XXV.

comme en témoigne l'ensemencement du sang pris dans la veine qui donne des cultures pures de ce microbe.

A partir du 28<sup>e</sup> jour, amélioration dans les symptômes généraux. Le pouvoir agglutinatif, qui avait atteint 1 pour 800 pendant la période d'état, est tombé à 1 pour 400 dès les premiers jours de la défervescence.

Obs. XXVI. — Fièvre typhoïde grave, ataxo-adynergique, de longue durée (39 jours), compliquée à la fin de pneumonie.

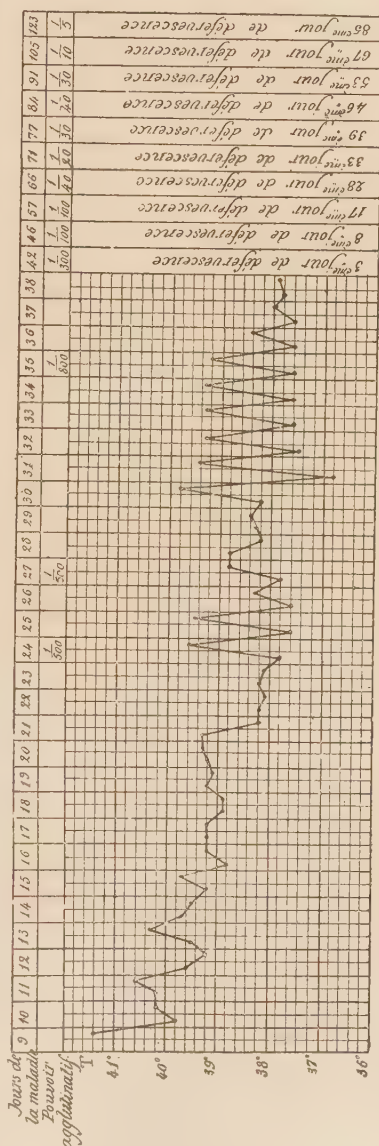
Le pouvoir agglutinatif n'a été mesuré que tardivement; il était très intense et s'est élevé au chiffre considérable de 1 p. 800. Un coup d'œil jeté sur la courbe ci-jointe nous montre avec quelle rapidité et par quelle progression descendante le pouvoir agglutinatif s'est abaissé pendant la convalescence. Le pouvoir agglutinatif, très élevé pendant la période d'infection, atteint

son maximum quelques jours avant la fin de la période fébrile, puis subit une diminution très considérable dès les premiers jours de la convalescence, reste stationnaire pendant un temps entre 1 p. 20 et 4 p. 30 et s'abaisse à 1 p. 5 le 85<sup>e</sup> jour de la défervescence.

Obs. XXVII. — Fièvre typhoïde grave et de longue durée chez un jeune homme de 26 ans. Dès les premiers jours, intoxication profonde et phlébite du membre inférieur droit. Accidents de myocardite. Pendant la défervescence, une phlébite apparaît dans le membre inférieur du côté gauche. La convalescence est traînante, l'état général est mauvais, le facies reste terneux et cachectique.

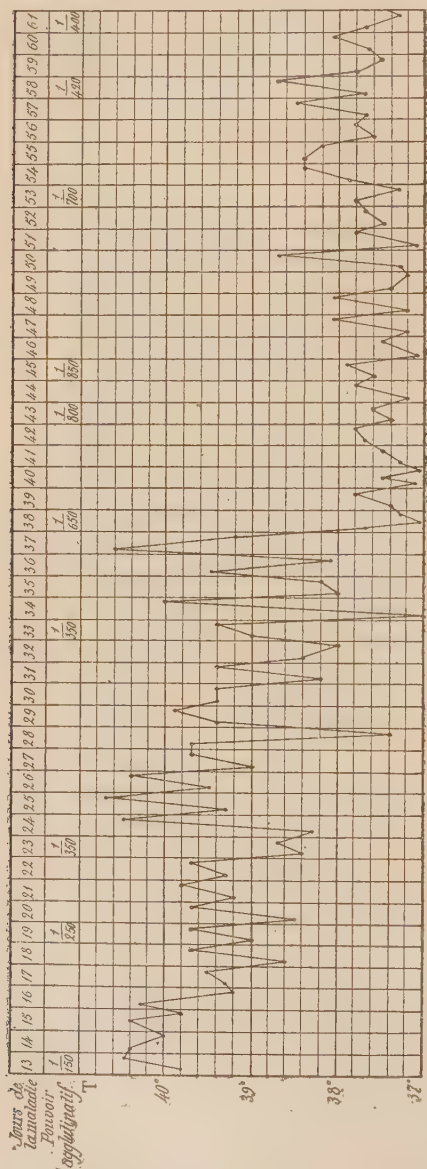
Comme le montre la courbe ci-jointe, la température a suivi une marche ascendante pour atteindre son maximum pendant la période intercalaire séparant la première attaque de la rechute légère, et pour diminuer pendant cette rechute.

Obs. XXVIII. — Jeune homme de 20 ans, au 16<sup>e</sup> jour de lit à son entrée à l'hôpital. Symptômes peu graves, pas de stupeur, intelligence intacte, bon sommeil la nuit. Urines rares albumineuses, légèrement sanglantes. Pas de symptômes pul-



Observation XXVI.

monaires. Les symptômes vont en s'atténuant, défervescence le 29<sup>e</sup> jour.



Observation XXVII.

Enumérés, fièvre typhoïde légère, avec pouvoir agglutinatif peu élevé pendant toute la durée de la maladie, oscillant entre 1 pour 70 et 1 pour 100. Élévation de ce pouvoir à 1 pour 1,000 pendant les premiers jours de la convalescence.

Obs. XXIX. — Homme de 31 ans, entré dans le service de M. Fernet le 13<sup>e</sup> jour de sa maladie pour une fièvre typhoïde compliquée de suppurations multiples. Le pouvoir agglutinatif le jour de l'entrée était de 1 pour 1,800. Le 19<sup>e</sup> jour, le malade était apyrétique. Il mourut pendant les premiers jours de la convalescence du fait de ses infections secondaires. L'avant-veille de la mort, le pouvoir agglutinatif était encore de 1 pour 1,500.

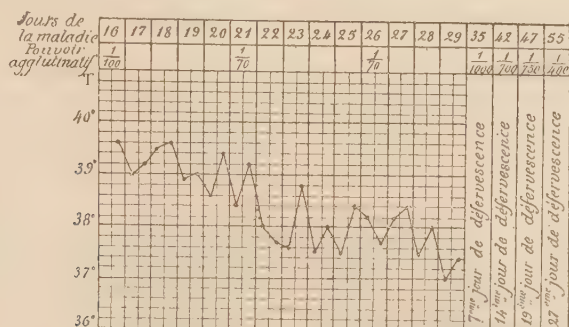
Obs. XXX. — Jeune fille de 20 ans, malade depuis 15 jours, alitée seulement depuis 4 jours. Langue sèche, trémulente, rate grosse, diarrhée



abondante. Pas de troubles intellectuels le jour de l'entrée.

Les jours suivants les symptômes s'accroissent; les taches rosées apparaissent quatre jours après son entrée, et la maladie revêt la forme ataxo-adyynamique. Hémorragie intestinale le 16<sup>e</sup> jour de l'alitement.

L'intérêt de cette observation est dans les écarts énormes présentés par le pouvoir agglutinatif.



Observation XXVIII.

#### MESURES DU POUVOIR AGGLUTINATIF

4 <sup>e</sup> jour de lit .....	1 pour 300
7 <sup>e</sup> jour de lit .....	1 pour 2000
11 <sup>e</sup> jour de lit .....	1 pour 2000
14 <sup>e</sup> jour de lit .....	1 pour 1500
17 <sup>e</sup> jour de lit (lendemain d'une hémorragie intestinale) .....	1 pour 250
20 <sup>e</sup> jour de lit .....	1 pour 300
26 <sup>e</sup> jour de lit .....	1 pour 200

La maladie n'est pas encore actuellement terminée.

#### V. — CAS A POUVOIR AGGLUTINATIF TRÈS INTENSE DÉPASSANT 1 POUR 5,000.

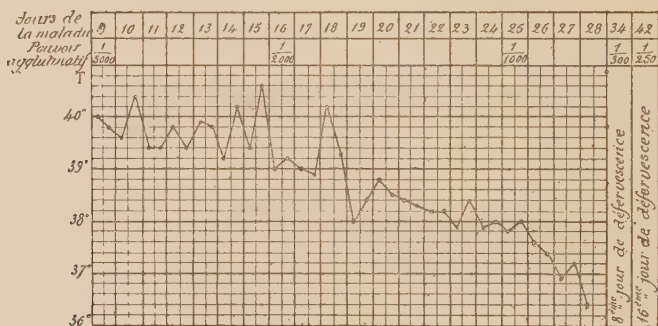
OBS. XXXI. — Homme de 26 ans. Dès les premiers jours de la maladie, délire très violent. Idées de suicide. Il entre à l'hôpital le 7<sup>e</sup> jour de la maladie. Rate très grosse. Langue sèche. Constipation. Albuminurie. Pas de signes pulmonaires. Taches extrêmement confluentes, avec éruption pétéchiale dans le dos, qui avaient fait penser un moment au typhus.

Le délire s'apaise pendant les trois jours qui suivent l'entrée à l'hôpital. Stupeur. Les jours suivants, la stupeur disparaît,

l'état général s'améliore. Le 19<sup>e</sup> jour, la température tombe à 38°, et le 27<sup>e</sup> jour la dépression est complète.

En résumé, fièvre typhoïde de moyenne gravité, avec symptômes bruyants seulement dans les premiers jours. Le pouvoir agglutinatif a pourtant été très considérable, comme le montre le tracé ci-joint ; il a atteint 1 pour 5,000 le 9<sup>e</sup> jour. La décroissance de ce pouvoir a commencé en pleine période d'état et a continué progressivement pendant la convalescence ; il n'était plus que de 1 pour 250, le 16<sup>e</sup> jour de la défervescence.

OBS. XXXII. — Homme de 47 ans. Malade depuis 15 jours avec céphalalgie, lassitude générale, diarrhée. Il continue ses affaires pendant les premiers jours. Il entre à l'hôpital avec une température de 40°. Les jours suivants, la température oscille



Observation XXXI.

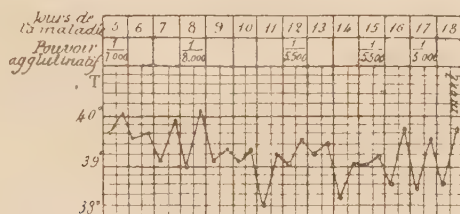
entre 39° et 40°. Langue sèche, diarrhée peu abondante, tympanisme, taches rosées confluentes, rate grosse, sibilances, traces d'albumine, plusieurs épistaxis. Pas de stupeur, le malade est très présent et sans symptômes d'intoxication générale, il semble devoir faire une fièvre typhoïde de forme légère. Le 14<sup>e</sup> jour de la maladie le pouls devient dicrote ; l'état général devient moins bon. Le lendemain et le surlendemain, le pouls devient rapide, bat 150 à la minute ; les battements du cœur sont faibles, à peine perceptibles.

Le 18<sup>e</sup> jour, le pouls est incomptable ; on n'entend plus les battements du cœur ; les extrémités sont froides. La mort survient le même jour dans le collapsus.

Le pouvoir agglutinatif très intense (1 pour 8,000 le 8<sup>e</sup> jour

de l'alitement) était tombé à 1 pour 5,000 la veille de la mort. (Voir le tracé.)

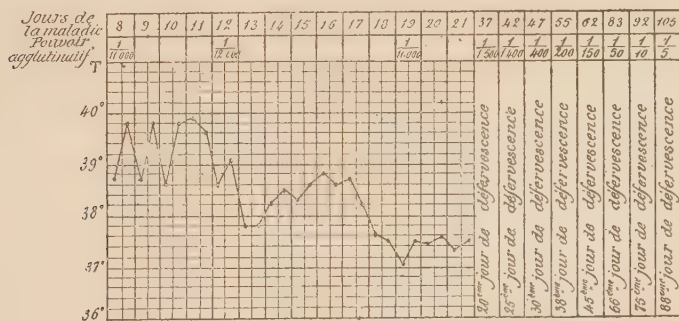
OBS. XXXIII. — Jeune homme de 22 ans. Le jour de l'entrée à l'hôpital il était mal à l'aise depuis 18 jours et alité depuis 6 jours. Fièvre typhoïde de moyenne intensité. Délire et agita-



Observation XXXII

tion pendant quelques jours seulement. Défervescence après 18 jours de lit seulement. Convalescence rapide.

Le grand intérêt de cette observation est dans l'intensité absolument exceptionnelle du pouvoir agglutinatif du sérum de



Observation XXXIII.

ce malade, pouvoir qui, dès le premier examen, s'élevait au taux surprenant de 1 pour 11,000 et bientôt de 1 pour 12,000.

Il est difficile de préciser, chez ce malade, la date exacte du début de l'affection. Ce que l'on peut dire, c'est qu'il a pris le lit après 12 jours de malaise et qu'il était en défervescence après 18 jours de lit.

L'évolution et la gravité de la maladie étaient bien loin d'être en rapport avec l'intensité tout à fait exceptionnelle du

pouvoir agglutinatif. Il est intéressant de constater avec quelle rapidité le pouvoir agglutinatif s'est abaissé pendant la convalescence, tombant rapidement à 1 pour 10 le 75<sup>e</sup> jour de la défervescence, à 1 pour 5 le 105<sup>e</sup> jour.

Le simple examen de ces quelques observations nous montre que si, comme l'a montré le premier M. Paul Courmont<sup>1</sup>, un taux agglutinatif peu élevé s'observe souvent dans les formes légères, la gravité d'une fièvre typhoïde est loin d'être toujours en rapport avec l'intensité du pouvoir agglutinatif. Il suffit, pour s'en convaincre, de jeter un coup d'œil sur les courbes des observations. L'intensité du pouvoir agglutinatif, mesuré dès les premiers jours, ne saurait renseigner sur l'évolution ultérieure de la maladie.

Dans deux de nos observations, le pouvoir agglutinatif a pu être mesuré dès le 5<sup>e</sup> jour, et il était déjà, à cette date, de 1 pour 50 et de 1 pour 80. Dans l'observation XI, le pouvoir agglutinatif, mesuré le 6<sup>e</sup> jour, était déjà de 1 pour 50. Dans l'observation XXXII, au 5<sup>e</sup> jour de lit, le pouvoir agglutinatif était de 1 pour 7,000; dans l'observation XXXIII, au 8<sup>e</sup> jour de lit, il était de 1 pour 11,000 et dans l'observation XXXI, au 9<sup>e</sup> jour de lit, il était de 1 pour 5,000.

La courbe du pouvoir agglutinatif suivi pendant toute la durée de la maladie a une évolution variable et imprévue d'un cas à l'autre. L'observation XXX offre un exemple frappant des écarts parfois énormes qu'elle peut présenter. Tantôt le pouvoir agglutinatif est peu élevé au début de la maladie et s'élève progressivement pendant la période d'état et pendant la période de déclin; tantôt ce pouvoir reste durant tout le cours de l'affection ce qu'il était dès les premiers jours; tantôt il décroît pendant la période de déclin.

Dans deux cas mortels (obs. IV et XII), nous avons vu l'intensité du pouvoir agglutinatif diminuer considérablement avant la mort. Dans deux autres cas terminés également par la mort (obs. XI et XXXII), le pouvoir agglutinatif s'était abaissé également au moment de la mort, mais en moindres proportions. Enfin, dans un autre cas mortel (obs. XX), le pouvoir aggluti-

1. PAUL COURMONT, Sur le sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. *Société de biologie*, 25 juillet 1896. — Cent cas de sérodiagnostic. *Presse médicale*, 1897, n° 9, p. 50.



natif était le jour de la mort ce qu'il était le jour de l'entrée à l'hôpital. Dans plusieurs cas terminés par la guérison, nous avons assisté également à cette décroissance, en apparence paradoxale, du pouvoir agglutinatif depuis le début jusqu'à la fin de la maladie.

Dans les observations XXXI, XXXII et XXXIII, le pouvoir agglutinatif avait été d'une intensité remarquable, dès les premiers temps de la maladie.

Dans un cas (obs. XXI), nous avons vu le pouvoir agglutinatif s'abaisser vers le milieu de la maladie, pour remonter à la période de déclin, s'abaisser à nouveau dès le début de la défervescence et remonter encore pendant le 2<sup>e</sup> septénaire de la convalescence. On observe parfois, d'un jour à l'autre, des variations inattendues dans le pouvoir agglutinatif du sérum.

Dans un certain nombre de cas, on voit ce pouvoir s'élever brusquement et quelquefois d'une façon considérable, dans les derniers jours de la maladie, à la façon d'un phénomène critique, ou même dans les premiers temps de la convalescence.

Dans l'observation XVI, on voit que le pouvoir agglutinatif, mesuré pendant la période apyrétique, l'avant-veille de la rechute, était de 1 pour 150, c'est-à-dire à un taux qu'il n'avait jamais atteint lors de la première attaque. L'apparition de la rechute, deux jours après cette constatation, montre une fois de plus que la réaction agglutinante n'est pas un phénomène d'immunisation.

La ténacité du pouvoir agglutinatif varie d'un sujet à l'autre.

Nous ignorons encore les raisons, sans doute fort complexes, qui font varier la puissance de la propriété agglutinative. Il semble que chaque typhique fournit la réaction agglutinante à sa façon. L'infection impressionne nos humeurs et nos tissus, et l'organisme fait, en partie, le reste, suivant son aptitude individuelle, suivant une véritable idiosyncrasie : il fournit une réaction plus ou moins précoce, plus ou moins intense, plus ou moins variable, plus ou moins tenace. C'est ici que l'individualité reprend ses droits.

En raison de ses variations personnelles et inexplicables, on devait prévoir, comme nous l'avons fait dès nos premières

1. F. WIDAL, *Presse médicale*, 1896, p. 357; Congrès de Nancy, in *Presse médicale*, 1896, p. 389.

communications, une sorte d'idiosyncrasie, ne laissant apparaître le phénomène que très tardivement, ou même à la rigueur pouvant le faire manquer.

Nous avons observé un cas de fièvre typhoïde à rechute dans lequel la réaction n'a apparu ni pendant les périodes fébriles, ni pendant la convalescence. Il s'agissait d'un homme de 40 ans, entré à l'hôpital pour des symptômes dont le début remontait à 12 jours. Le malade accusait une céphalée intense, de l'insomnie et de l'anorexie. Les selles étaient diarrhéiques et jaunes, on entendait des sibilances dans la poitrine; la rate était grosse, le ventre ballonné, mais on ne put jamais constater de taches rosées. Cet homme avait conservé toute son activité intellectuelle, il n'eut jamais ni stupeur, ni délire. La température reste oscillante, pendant 12 jours, entre 39° et 40°, puis s'abaisse progressivement; la première défervescence ne fut complète que le 37<sup>e</sup> jour.

Après 11 jours d'apyrexie, la température s'élève à nouveau, reste oscillante au-dessus de 39° pendant plusieurs jours. La rechute dura en tout 14 jours. Le sérum, examiné fréquemment pendant les deux attaques, pendant la période intercalaire et après la défervescence définitive, ne donna jamais que des résultats négatifs. Une ponction de la rate faite pendant la première attaque et pendant la rechute donne chaque fois des cultures pures de bacilles d'Eberth agglutinables par les sérums typhiques.

C'est là un fait tout à fait exceptionnel, puisque nous avons vu la réaction agglutinante ne manquer qu'une seule fois chez 163 typhiques examinés par nous. Il ne peut donc toucher à la valeur du sérodiagnostic; mais, au point de vue théorique, il nous prouve, à l'évidence, que la réaction agglutinante n'a rien à faire avec l'immunité, puisque, par exception, un sujet peut guérir d'une double attaque de fièvre typhoïde, sans que son sérum n'ait jamais présenté la moindre trace de réaction agglutinante.

#### LE CRITÉRIUM DU SÉRODIAGNOSTIC

Dans les chapitres précédents, nous avons indiqué les différents procédés qui permettent de déceler la réaction agglutinante; nous avons donné les chiffres que fournit la mensuration

du pouvoir agglutinatif aux différentes périodes de la maladie; il nous reste à fixer le critérium qui permet en clinique de poser le diagnostic à l'aide de la séroréaction.

Dès nos premières communications, nous avons fixé à 1 pour 10 la proportion du sérum à mélanger au bouillon pour la recherche de la séroréaction, aussi bien par les procédés lents ou macroscopiques, que par le procédé rapide ou microscopique. Ce dernier procédé a toujours été notre procédé de choix, mais nous nous sommes sans cesse efforcés de montrer avec quelle précaution il devait être employé dans les cas où l'agglutination n'était pas d'emblée très manifeste. Voici les conseils successifs que nous avons donnés sur la technique à suivre.

Par le procédé que nous avons appelé extemporané ou encore instantané<sup>1</sup>, on peut presque instantanément ou au bout de quelques minutes, si le sérum provient d'un typhique, constater les amas microbiens caractéristiques. Lorsque la préparation est agitée de nombreux mouvements browniens, on a tout intérêt à la laisser reposer un quart d'heure ou une demi-heure pour bien saisir la formation des amas. Si l'examen extemporané ne montre que des bacilles isolés ou mobiles, ou même si les amas, tout en étant caractéristiques, ne sont pas très confluent, disposés sur tous les points de la préparation à la façon des îlots d'un archipel, ajoutons-nous au Congrès de Nancy, nous examinons de nouveau le mélange après plusieurs heures, à l'œil nu et au microscope. Pour éviter toute erreur dans l'appréciation des amas au microscope, nous avons donc conseillé, si les amas existants ne paraissent pas très confluent, de ne pas s'en tenir au procédé microscopique seul et d'avoir recours au procédé macroscopique, en examinant après plusieurs heures de mélange dans le tube. C'était là une contre-épreuve, de la première opération, bien propre à éviter toute confusion avec de faux amas, car, nous l'avons vu, l'agglutination des bacilles est beaucoup moins facile dans une colonne liquide que dans une goutte placée entre lame et lamelle. Depuis cette époque, nous avons étudié patiemment les résultats fournis par la mensuration du pouvoir agglutinatif, qui peut nous dispenser, nous le verrons plus loin, de la contre-épreuve fournie par l'examen macroscopique.

1. WIDAL, *Société médic. des Hôpitaux*, 26 juin et 24 juillet 1896. — *Presse médicale*, 29 juillet 1896. — *Congrès de Nancy*, 6 août 1896.

En nous conformant aux règles que nous avons données, nous n'avons jamais été trompés dans l'examen de près de cinq cents sérums typhiques ou non typhiques, et nous avons pu constater la réaction chez 162 malades atteints de fièvre typhoïde. Les expérimentateurs qui ont suivi strictement nos prescriptions ne se sont pas trompés sur la valeur des pseudo-agglutinations qui peuvent par exception se montrer au microscope, et qui, pour un expérimentateur tant soit peu exercé, prêtent difficilement à la confusion.

Les cas contradictoires jusqu'ici publiés sont tout à fait exceptionnels, et sont loin en général d'être à l'abri de la critique.

Nous nous sommes suffisamment expliqués ailleurs à ce sujet sur le cas de M. Ferrand <sup>1</sup>, pour n'avoir pas à y revenir. Dans le cas de M. Jez <sup>2</sup>, la réaction agglutinante avait été constatée chez un malade pendant la vie, et, à l'autopsie, on constata de la tuberculose méningée; mais l'ensemencement des organes n'a pas été fait et nous ne savons pas si le malade n'a pas succombé à une infection mixte tuberculeuse et typhique. Dans le cas de M. du Mesnil de Rochemont <sup>3</sup>, la réaction agglutinante avait été constatée au microscope, jusque dans la proportion de 1 p. 30. A l'autopsie on constata une méningite purulente à streptocoques, un carcinome ulcéré de l'estomac, de l'entérite folliculaire. L'observation ne nous dit pas si le bacille d'Eberth a été cherché dans les organes. Si cette recherche avait été tentée, peut-être aurait-elle été infructueuse, mais ces observations en auraient gagné en précision. Pour des faits aussi exceptionnellement contradictoires, nous sommes en droit, à l'heure actuelle, d'exiger un examen bactériologique complet. Nous n'en voulons pour preuve que le cas de M. Pick <sup>4</sup> et le cas de MM. Guinon et Meunier <sup>5</sup>. Dans le cas de M. Pick, le sérodiagnostic avait été positif pendant la vie. A l'autopsie on ne trouva pas de lésions typhiques de l'intestin ni de la rate, mais on constata le bacille d'Eberth dans l'intestin. Dans le cas de MM. Guinon et Meu-

1. FERRAND, *Société médicale des Hôpitaux*, 22 janvier 1897.

2. JEZ, *Wiener medicin. Wochenschrift*, 16 janvier 1897.

3. DU MESNIL DE ROCHEMONT, *Münchener medicinische Wochenschrift*, 2 février 1897, n° 5.

4. PICK, *Wiener Klin. Wochenschrift*, 1897, n° 4, p. 82.

5. GUINON ET MEUNIER, Fièvre typhoïde et tuberculose aiguë associée, etc. *Société médicale des Hôpitaux*, 2 avril 1897.



nier, le malade avait présenté pendant la vie des symptômes de fièvre typhoïde et de tuberculose aiguë, et trois fois le sérodiagnostic avait été positif. A l'autopsie on constata une granulie typique des poumons, des méninges, des reins, du foie, de la rate, de l'intestin, mais pas de lésions dothiéntériques. Des ensemencements de la rate, du poumon, du liquide pleural donnèrent des cultures d'un bacille, qu'une identification rigoureuse montra être du bacille d'Eberth.

« L'association des deux infections était bien réelle, disent MM. Guinon et Meunier : le sérodiagnostic n'était pas en défaut. Mais quels risques n'a-t-il pas courus dans cette circonstance? De combien peu s'en est-il fallu que la légitimité de la méthode agglutinante fût compromise par des faits bien observés en apparence? Noyée dans l'évolution plus tapageuse de la tuberculose aiguë, éteinte pour ainsi dire au moment de la mort, la fièvre typhoïde a failli nous échapper : l'examen nécropsique lui-même ne nous a fourni aucun argument en sa faveur. Bien plus, la pauvreté de nos cultures eberthiennes extraites de la rate nous a prouvé que le bacille typhique était en voie de disparition; que, quelques jours plus tard, il se fût sans doute dérobé complètement à nos investigations bactériologiques : nous ne trouvions plus dès lors que la seule granulie, le tubercule partout, le bacille de Koch dans tous les organes. Et, de bonne foi vraiment, nous aurions ajouté notre observation aux quelques faits, très rares (peut-être analogues), dans lesquels la réaction agglutinante a été observée au cours de la granulie! »

Ce fait nous montre avec quelle exactitude le sérodiagnostic peut nous permettre de dépister en clinique les formes anormales d'infection à bacilles d'Eberth.

M. Van Ordt <sup>1</sup>, dans un cas bien étudié d'endocardite infectieuse avec méningite suppurée chez un individu n'ayant pas eu de fièvre typhoïde, a constaté pendant la vie la réaction, après dilution du sérum et de la culture dans la proportion de 1 pour 40. A l'autopsie, l'ensemencement des viscères ne donna que des cultures de pneumocoques et d'un bacille différent de celui de la fièvre typhoïde.

Est-ce là un fait exceptionnel de réaction agglutinante se

1. VAN ORDT, *Münchener Medic. Wochenschrift.*, loc. cit.

montrant chez un individu n'ayant jamais été sous l'influence du bacille d'Eberth? Le malade avait-il eu dans son passé une infection typhique assez légère pour être méconnue? Ce sont là deux hypothèses également admissibles.

Déjà, au mois de septembre dernier, nous avons montré que l'on pouvait, par le procédé macroscopique, mesurer le pouvoir agglutinatif d'un sérum. Un peu plus tard<sup>1</sup>, ayant observé, comme l'avaient vu MM. Nicolle et Halipré, que le pouvoir agglutinatif du sérum d'un typhique à la période d'état atteignait en général dans ces conditions au moins 1 pour 60, nous disions que, dans les cas à résultat douteux, il serait bon d'augmenter la dilution du mélange, et nous ajoutions : « Si des observations rigoureuses nous montraient que, pour quelques cas exceptionnels, le mélange à 1 pour 10 est trop concentré, rien ne serait plus simple, en ce cas, de parer à cette petite difficulté par une légère modification de technique, en étendant un peu plus la dilution, car nous avons le champ large, entre 1 pour 10 et 1 pour 60. »

Depuis cette époque, nous avons pris à tâche de recueillir des éléments pour la solution de ce problème, en étudiant aussi minutieusement que possible le pouvoir agglutinatif du sérum des typhiques aux différentes périodes de la maladie par le procédé extemporané.

Les différents expérimentateurs qui ont répondu à notre appel ont proposé des titres de dilution différents.

M. du Mesnil de Rochemont<sup>2</sup> a proposé l'examen macroscopique fait avec une dilution à 1 pour 25; M. Kolle<sup>3</sup> a proposé l'examen microscopique fait avec une dilution à 1 pour 30; M. Grünbaum<sup>4</sup> a proposé la dilution de 1 pour 33; M. Stern<sup>5</sup>, celle de 1 pour 40 à 1 pour 50.

M. Stern est celui qui a étudié avec le plus de soin les réactions partielles que l'on peut observer dans certaines conditions avec certains sérums non typhiques, et c'est lui qui propose

1. WIDAL ET SICARD, Affections paratyphoïdiques, etc. *Société médic. des Hôpitaux*, 14 décembre 1896.

2. DU MESNIL DE ROCHEMONT, *Münchener Medicin. Wochenschrift* (loc. cit.).

3. KOLLE. (Loc. cit.)

4. GRÜNBAUM. *Münchener Medicin. Wochenschrift*, 1897, p. 330.

5. STERN, Ueber Fehlerquellen der Serodiagnostik. *Berliner Klinisch. Wochenschrift*, 1897, n° 14.

le titre de dilution le plus élevé. Examinons donc les faits sur lesquels il s'appuie.

Remarquons d'abord que M. Stern s'est mis dans des conditions différentes des nôtres. Il place pendant 2 heures à l'étuve à 37° les préparations faites après mélange du sérum à une culture sur gélose délayée.

Dans ces conditions, la chaleur et la dessiccation hâtent la formation des amas. Le séjour à l'étuve est une complication inutile. Il suffit simplement de laisser la préparation reposer, ou, si l'on craint la dessiccation à l'air libre, il suffit de la placer dans une chambre humide. M. Stern a constaté que l'agglutination progressait jusqu'à la sixième ou huitième heure de séjour à l'étuve; il a préféré cependant avec raison ne pas attendre plus de deux heures; en abandonnant pendant 6 ou 8 heures à l'étuve à 37° une préparation faite avec une culture pure de bacilles d'Eberth non additionnée de sérum, on voit parfois, en effet, des bacilles primitivement isolés se déposer naturellement en petits amas.

L'examen du sérum de 70 personnes saines ou malades, mais disant n'avoir jamais eu la fièvre typhoïde, a fourni les résultats suivants :

Dans vingt cas, avec la dilution à 1 pour 10, M. Stern a obtenu la formation d'amas, jamais aussi marqués, il est vrai, que dans les cas de fièvre typhoïde intense.

Dans cinq de ces vingt cas, il a encore vu des amas, avec la dilution à 1 pour 20, et même dans deux cas il aurait encore constaté des traces après dilution à 1 pour 30.

Les résultats obtenus par M. Stern sont tellement différents des nôtres et de ceux de la plupart des bactériologistes qui se sont occupés de la question, qu'il faut bien admettre que la différence tient aux conditions dans lesquelles s'est mis cet expérimentateur. Si 20 fois sur 70, c'est-à-dire si, dans près d'un tiers de cas, en suivant nos premières indications, on obtenait avec des sérums non typhiques une agglutination pouvant être confondue avec celle fournie par les sérums typhiques, tous les auteurs qui ont bien voulu contrôler notre méthode auraient proclamé avec raison son inexactitude, et l'auraient rejetée comme inférieure à tous les procédés fournis par la clinique; ils ont montré, au contraire, tous les services qu'elle pouvait rendre.



Si M. Stern a obtenu ces résultats, c'est parce qu'il laissait ses préparations pendant 2 heures à l'étuve à 37°, et ne se conformait pas aux règles que nous avons données, pour la pratique du séro-diagnostic extemporané.

L'étude faite par M. Stern sur les sérums non typhiques n'en offre pas moins d'intérêt; elle nous enseigne qu'il faut interpréter avec une certaine prudence les chiffres fournis par la mensuration du pouvoir agglutinatif des sérums suspects lorsque ces chiffres sont peu élevés et quand la préparation n'a été examinée qu'après un long temps.

Dans un travail précédent, nous avons montré que le pouvoir agglutinatif des sérums typhiques mesuré par nous avait presque toujours été égal ou supérieur à 1 pour 50. Les résultats obtenus par M. Stern sont à peu près analogues. Cette fois, en effet, la statistique de cet auteur et la nôtre étaient plus comparables, parce que, pour la mensuration du pouvoir agglutinatif, contrairement à ce que nous faisons pour le sérodiagnostic instantané, nous laissons toujours de parti pris les préparations reposer pendant une ou deux heures.

Si la réaction spécifique fourni par le sérum des typhiques ne se montrait jamais inférieure à 1 p. 50, nous ne verrions aucun inconvénient à employer cette unique proportion pour le sérodiagnostic, mais en ne nous tenant pas à une seule mensuration et en évaluant le pouvoir agglutinatif à différentes périodes de la maladie chez les mêmes sujets, nous avons vu dans un cas (obs. I) le pouvoir agglutinatif ne pas dépasser 1 p. 40, et dans deux cas (obs. IV et XXI), ce pouvoir, primitivement à 1 p. 80 ou à 1 p. 50, tomber pendant la période d'état à 1 p. 30, 1 p. 20, à 1 p. 10, et même dans un des deux cas à 1 p. 5. Le sérodiagnostic fait à ces périodes, uniquement avec une dilution à 1 p. 50, aurait donné une réponse complètement négative. D'autres expérimentateurs, comme M. Hædke<sup>1</sup>, dans un travail très étudié, ont trouvé chez certains malades des réactions inférieures à 1 p. 50. M. Achard a rapporté des faits semblables.

MM. Guinon et Meunier, dans leur cas, n'ont jamais

1. HÆDKE, Die diagnose des Abdominaltyphus und Widals Serumdiagnostisches Verfahren. *Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1897, n° 2.



constaté une réaction supérieure à 1 p. 20, et nous avons vu avec quelle exactitude elle les a renseignés.

Allons-nous donc de propos délibéré nous priver pour certains cas d'un guide aussi précieux et la peur d'une faute va-t-elle nous faire tomber dans une autre?

Déjà, M. C. Fränkel<sup>1</sup> s'est élevé contre une telle manière de voir et a proposé d'asseoir le sérodiagnostic sur l'examen microscopique de trois dilutions du sérum et de la culture faites en proportion de 1 p. 10, de 1 p. 25 et de 1 p. 50.

Voici, dans la recherche du sérodiagnostic, la marche que nous suivons actuellement, en nous inspirant à la fois de nos propres recherches et des recherches de contrôle de différents expérimentateurs.

Nous commençons toujours par l'examen microscopique d'un mélange à 1 p. 10 fait avec une culture jeune en bouillon. L'apparition d'amas confluent et tassés permet le plus souvent un diagnostic presque instantané, et nous répétons que nous n'avons jamais été trompés par cette réaction.

Nous procédons ensuite immédiatement à la mensuration exacte du pouvoir agglutinatif. La séroréaction mérite comme tout autre symptôme d'être étudiée dans ses détails. Un bactériologiste convié à un examen de sérodiagnostic peut mesurer le pouvoir du sérum, comme un chimiste dose l'albumine d'une urine. Cette mensuration non seulement nous renseigne sur l'intensité de la réaction, mais nous force à étudier plus exactement le phénomène; *elle ne doit surtout jamais être négligée dans les cas douteux où la réaction est faible.*

Si le bactériologiste a peu de sérum à sa disposition, il peut à la rigueur se contenter d'une seconde dilution à 1 p. 50, qui sert de contre-épreuve à la première. Plusieurs milliers de sérums typhiques ou non typhiques ont, depuis quelques mois, été soumis en différents pays à l'épreuve de la séroréaction; et jamais personne, à notre connaissance, n'a seulement cru constater d'agglutination avec un sérum typhique en employant cette proportion.

Par contre le pouvoir, chez un typhique, peut, dans quelques

1. C. FRÄNKEL, Weitere erfahrungen über den Werth der Widal'schen Probe. *Deutsche medicin. Wochenschrift*, 15 avril 1897, p. 204.

cas relativement rares, être inférieur à 1 p. 50. Si, en présence d'un pouvoir agglutinatif faible, compris seulement entre 1 p. 40 ou 1 p. 50, un bactériologiste est trop timide pour oser conclure, nous lui conseillons de considérer le cas au moins comme des plus suspects, et de renouveler, pour se convaincre, la mensuration les jours suivants. Les courbes que nous avons tracées montrent suffisamment combien le pouvoir agglutinatif subit d'oscillations d'un jour à l'autre au cours de la maladie. Ces oscillations, si le pouvoir est faible, seront une preuve de plus en faveur du diagnostic de fièvre typhoïde.

#### CONCLUSIONS GÉNÉRALES

La réaction agglutinante est bien déjà une réaction de la période d'infection. On peut, en général, la détecter chez les typhiques dès les premiers jours de la maladie; si elle est parfois retardée, elle ne manque que par exception (1 fois sur 163, dans notre statistique). On ne saurait mieux demander à une méthode basée sur une réaction biologique toujours soumise à des variations individuelles et imprévues.

Le phénomène de l'agglutination n'est pas une réaction vitale de la part des microbes agglomérés.

Au point de vue pratique, notre conclusion reste ce qu'elle était au début de nos recherches :

Un résultat négatif obtenu avec le sérum d'un malade suspect fournit une probabilité contre le diagnostic de fièvre typhoïde, mais ce n'est qu'une probabilité, surtout si la recherche a été faite dans les premiers jours de la maladie; l'examen doit être alors répété les jours suivants. La probabilité est d'autant plus grande que l'examen est pratiqué à une époque plus avancée de la maladie.

Une réaction positive obtenue en suivant les règles de mensuration que nous avons indiquées doit être considérée comme un signe de certitude de la fièvre typhoïde.

---

*Le Gérant : G. MASSON.*

---